UNIVERSITÉ DE STRASBOURG - FACULTÉ DE PHARMACIE

1921-1922 N° 10

ÉTUDE CHIMIQUE

des

FRUITS du HARONGA MADAGASCARIENSIS

Exposé d'une méthode générale pour analyses phytochimiques

THÈSE

Présentée et soutenue publiquement le 12 juillet 1922
à la Faculté de Pharmacie de Strasbourg,
pour obtenir le grade de Docteur de l'Université (Mention Pharmacie)

PAR

THORVALD BERNHARDT AAGAARD

Pharmacien,
Préparateur à l'Institut de Chimie de l'Université de Christiania.

JURY:

Examinateurs de la Thèse { MM. JADIN, Professeur, Président.
VOLMAR, Chargé de cours } Juges.
LOBSTEIN, Chargé d'un cours }

EDITIONS
de la GAZETTE MÉDICALE DE STRASBOURG
ET REVUE D'HYGIÈNE SOCIALE
26,. Avenue de la Marseillaise, 26
Strasbourg

UNIVERSITÉ DE STRASBOURG - FACULTÉ DE PHARMACIE

1921-1922 N° 10

ÉTUDE CHIMIQUE

des

FRUITS du HARONGA MADAGASCARIENSIS

Exposé d'une méthode générale pour analyses phytochimiques

THÈSE

Présentée et soutenue publiquement le 12 juillet 1922
à la Faculté de Pharmacie de Strasbourg,
pour obtenir le grade de Docteur de l'Université (Mention Pharmacie)

PAR

THORVALD BERNHARDT AAGAARD

Pharmacien,
Préparateur à l'Institut de Chimie de l'Université de Christiania.

R. UNIV. BIBLIOTHEEK LEIDEN

JURY :

Examinateurs de la Thèse { MM. JADIN, Professeur, Président.
VOLMAR, Chargé de cours
LOBSTEIN, Chargé d'un cours } Juges.

EDITIONS
de la GAZETTE MÉDICALE DE STRASBOURG
ET REVUE D'HYGIÈNE SOCIALE
26, Avenue de la Marseillaise, 26
Strasbourg

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41548024_0063

UNIVERSITÉ DE STRASBOURG

FACULTÉ DE PHARMACIE

ADMINISTRATION

MM. JADIN, *Doyen*, ✲ ⚙ I.
BRÆMER, *Assesseur*, ✲ ⚙ I.
RENARD, *Secrétaire*.

PROFESSEURS

MM.	BRÆMER, ✲ ⚙ I.	Matière médicale
	JADIN, ✲ ⚙ I.	Pharmacie chimique.
	LABORDE, ⚙ I.	Chimie organique.
	SARTORY, ✲ ⚙ I. ⚙	Bactériologie.
	LAVIALLE, ⚙ A.	Botanique.
	GAUTIER, ⚙ I.	Pharmacie galénique.

CHARGÉ DE COURS

M. VOLMAR, ⚙ A. . . . . Chimie minérale.

COURS COMPLÉMENTAIRES

MM.	VOLMAR, ⚙ A.	Physique.
	GAUTIER, ⚙ I.	Zoologie.
	LABORDE, ⚙ I.	Chimie biologique.
	SARTORY, ✲ ⚙ I. ⚙	Botanique cryptogamique.
	BRÆMER, ✲ ⚙ I.	Legislation et Déontologie.
	LOBSTEIN, ⚙ A.	Hydrologie et Hygiène.

CHEFS DE TRAVAUX PRATIQUES

MM.	LOBSTEIN, ⚙ A.	Chimie et Physique.
	COLLARD	Chimie pharmaceutique.
	GARNIER.	Micrographie.
	MAIRE	Bactériologie et Parasitologie.

A ma MÈRE,

et à la MÉMOIRE de mon PÈRE.

A mon MAITRE,
Monsieur le PROFESSEUR E. BOEDKER.

Professeur à l'Institut de Chimie de l'Université de Christiania.

Témoignage de profonde reconnaissance.

A la MÉMOIRE de
MONSIEUR le PROFESSEUR R. KUENY

qui nous indiqua le sujet de cette thèse
et guida nos premières recherches.

AVANT-PROPOS.

Ce travail a été fait au Laboratoire d'Analyse chimique et de Toxicologie de la Faculté de Pharmacie de Strasbourg, sous la direction première de Mr. le Professeur KUENY. Mais un destin cruel ne permit pas à ce Maître de voir la fin de l'étude qu'il m'avait confiée. Une longue maladie le tint en effet éloigné du Laboratoire ; néanmoins sa pensée s'y portait sans cesse et peu de temps avant sa mort, il m'appela pour me donner encore des conseils et des encouragements. De ce Professeur aimable et aimé, je conserverai un souvenir ému.

Pendant la maladie et après la mort de Mr. KUENY, Mr. LOBSTEIN a bien voulu guider les recherches qu'il me restait à faire, puis m'aider dans la rédaction de cette Thèse. Je suis particulièrement heureux de lui exprimer ici ma vive reconnaissance.

Je ne saurais oublier parmi ceux qui se sont intéressés à mon travail, Mr. GARNIER, Chef de Travaux d'Histoire naturelle, et Mr. KIEHL, Préparateur au Laboratoire d'Analyse chimique et de Toxicologie.

J'ai mis à profit la belle installation que Mr. le Professeur NICLOUX possède à la Faculté de Médecine pour la micro-analyse selon la méthode de Pregl, et je remercie son Préparateur, Mr. WELTER, d'avoir bien voulu se charger des analyses microchimiques.

C'est aussi un devoir pour nous de remercier MM. les Professeurs Braemer et Jumelle et Mr. Lowitz, qui nous ont fourni si complaisamment tous les matériaux nécessaires à cette étude.

Enfin, je prie MM. les Professeurs de la Faculté de Pharmacie d'agréer mes remerciements pour la sympathie et la cordiale bienveillance avec lesquelles ils nous ont accueilli, et dont je garderai un ineffaçable souvenir. Tout particulièrement j'adresse à Mr. le Professeur Jadin, Doyen de la Faculté, qui m'a fait l'honneur d'accepter la Présidence de cette Thèse, mes sentiments de respectueuse et profonde gratitude.

INTRODUCTION.

Dans l'Antiquité et au Moyen-âge, alors que la médecine des simples et le traitement par les plantes étaient surtout en honneur, les espèces les plus communes des *Hypéricacées* ont joui d'une réputation thérapeutique solidement établie.

On ne peut, en effet, ouvrir aucun des ouvrages anciens traitant de la matière médicale sans y trouver des notices très élogieuses sur les vertus de ces plantes ; elles étaient utilisées surtout comme diurétiques, emménagogues, fébrifuges et vulnéraires.

A cette famille des Hypéricacées appartient le « *Haronga* » (*Haronga Madagascarensis Choisy*) qui est universellement employé depuis des siècles, dans la médecine populaire, surtout par les habitants de Madagascar.

Nous avons jugé bon de citer quelques articles parus dans la littérature au sujet du Haronga et de son usage thérapeutique.

Dans les Annales de l'Institut colonial de Marseille,[1]) nous lisons la communication suivante : Son nom vulgaire est « *Harongana à Madagascar* » où il est très répandu. On le trouve aussi aux Mascareignes, à l'île Maurice, mais il n'existe pas à l'île Bourbon. On le rencontre encore au Gabon : il y est appelé vulgairement « *Ogina-Gina* » ou « *Guttier du Gabon* ».

Il laisse exsuder de son tronc un suc jaune rougeâtre que les Malgaches nomment « Ditin-Harongana » mais ils n'en font pas grand usage, tandis que l'écorce leur sert à préparer une matière colorante jaune ou rouge, et un remède contre la gale, ou du moins la dermatose qu'ils appellent ainsi, et qui serait parait-il un eczéma.

Nous avons pu examiner récemment ce produit résineux de Haronga que nous devons à l'extrême obligeance de M. Vankeirslbick, Directeur du Jardin botanique des Pamplemousses à Maurice. Nous ne disposions que d'un seul morceau pesant trente grammes, noir à la surface, mais de coloration brune au centre, et contenant de nombreux fragments d'écorce.

[1]) Annales de l'Institut colonial de Marseille (1899), 7e année 6e volume, page 259.

Avec l'eau cette substance donnait une solution d'un beau jaune. En épuisant le produit successivement par l'eau et par l'acétone, nous nous sommes assuré qu'il se composait de 8% d'une résine noire ayant l'aspect d'une laque, et d'une matière colorante jaune qui était entraînée en partie avec la gomme et en partie également avec la résine. La proportion d'impuretés était de 3% environ.

Dans les *Annales du Musée colonial de Marseille* [1]) on a écrit sur le Haronga l'article suivant : « Les feuilles de ce végétal sont réputées fébrifuges, emménagogues, anticatarrhales, détersives, on les emploie aussi contre les angines. La tige et les racines renferment dans l'écorce primaire, le bois et la moelle (d'après Van Tieghem), des canaux secréteurs d'où l'on peut extraire, mais en petite quantité, une substance d'un rouge brique, devenant rouge de sang au contact de l'air, et que l'on a comparé à tort au sang-dragon fourni par certaines espèces de Dracæna et de Stenocarpus : c'est la *gomme-résine d'Haronga*. Ce produit exsude naturellement du tronc [2]) et les Malgaches le nomment « *Ditintraronga* » : il a été étudié par le Docteur Hubert Jacob de CORDEMOY dans ses belles recherches sur les gommes, les résines et gommes-résines des colonies françaises.

C'est la gomme-résine qui est la partie active de la plante ; elle se retrouve dans les feuilles. Les Malgaches utilisent cette gomme-résine fraîche contre les dartres, l'eczéma et autres maladies de la peau. Ils l'emploient fraîche parce qu'elle durcit en vieillissant. C'est avec cette résine et du suif que les Tanal confectionnent leur « Mena-diaharatra », onguent employé contre la gale (ou du moins, la dermatose appelée de ce nom), et contre les maladies du cuir chevelu ou de la peau.

Cet onguent est très en vogue à Madagascar. En Imerina, les feuilles sont pilées et employées comme cataplasme contre la gale (?) ; prises en décoction, elles servent contre la dysenterie et la diarrhée.

[1]) Annales du Musée colonial de Marseille (1910), 18e année, 2e série 8e vol., page 64.

[2]) C'est peut-être de cet arbre que parle Flacourt, quand il dit dans son histoire de la grande île de Madagascar qu'un arbre grand comme un noyer, « jette le sang de son écorce quand il est piqué, ni plus ni moins qu'un homme ». Toutefois, cet arbre n'atteint jamais les dimensions de notre noyer.

Chez les Betsiléo, les feuilles sont mêlées à celles de Tsimandra (Ethulia conizoides L.), pilées et séchées au soleil, puis employées comme remède contre la gale (?), en les appliquant sur les parties malades (R. Baron).

La décoction des feuilles est usitée en tisane contre les fièvres rebelles, la tuberculose pulmonaire, l'aménorrhée, la gonorrhée et la dysentérie par atonie intestinale.[1])

Les malades soumis au traitement du *Haronga* (usage interne) sont extrêmement sensibles au froid, éprouvent de l'insomnie, recherchent la chaleur et sentent leurs facultés intellectuelles notablement surexcitées, tandis qu'il se produit des exanthèmes sur la peau. (« Observations et expériences personnelles de R. Dursap ».)

Walter Busse [2]) dans une communication raconte que l'*écorce* de l'arbuste secrète un latex jaune, qui à l'état desséché correspondrait à la gomme-gutte.

« *The Paris Exhibition* »[3]) signale que l'écorce et les feuilles nommées « *Ogina-Gina* » sont employées en fumigations contre les fistules.

S. Thomme [4]) indique que le décocté des *racines* du *Haronga* est fortement purgatif et que les branches sont utilisées contre la fièvre.

Enfin, nous ajouterons une petite note [5]) relatant que le *Haronga* exsude de son tronc un suc résineux rouge, utilisé à *Baber* et à *Gazal*, pour coller le fer au bois de la flèche. »

* * *

Voilà ce que nous trouvons dans la littérature au sujet du *Haronga*, de son usage thérapeutique et des recherches chimiques qu'il suscita. Ces dernières, en particulier, sont peu développées : il s'agit principalement d'un traitement très simple du suc résineux exsudant du tronc. Les nombreux

[1]) Le Docteur Ramiisiray, dans sa Thèse (page 24), cite l'emploi de cette plante contre cette affection, en infusion et décoction.

[2]) Ber. Pharm. Ges. (1901) 10, page 413.

[3]) The Pharm. Journal and Transaction (1878), page 44.

[4]) Ber. Pharm. Ges. (1897) 7, page 354.

[5]) Der Tropenpflanzer, Zeitschrift für tropische Landwirtschaft (1911) 15, page 217.

usages médicaux des différentes parties de cette plante font supposer l'existence de substances organiques et inorganiques ayant une certaines action sur l'organisme.

A notre connaissance, les fruits n'ont fait l'objet d'aucune étude.

Nous avons eu la chance d'en recevoir une notable quantité provenant du « *Haronga de Guinée Française* ».

Avec ces fruits, qui sont loin d'être la partie la moins importante de la plante, nous avons fait une série de recherches afin de déterminer quels sont les corps qui entrent dans leur composition.

Quand il s'agit d'étudier la composition chimique des végétaux, on pense avant tout à la présence ou à l'absence des alcaloïdes et glucosides possibles. Ces corps en général possèdent, on le sait, une activité très grande sur l'organisme et c'est à eux qu'est due l'efficacité d'un grand nombre de drogues.

La Chimie moderne permet, au moyen d'analyses assez simples, de déceler la présence de ces corps importants. En ce qui concerne les fruits de *Haronga*, nous avons donc commencé notre étude par la recherche des alcaloïdes et glucosides.

Mais nos analyses nous ont montré que la présence des substances actives dans cette partie de la plante doit être considérée comme improbable.

D'autre part, nous avons vu, à la suite de nos recherches, qu'il se trouve dans les fruits *un grand nombre de corps* organiques et inorganiques, plus ou moins intéressants.

Ce fait nous a amené à modifier quelque peu nos projets primitifs : au lieu de nous attacher à l'identification et à la séparation des corps de groupements définis, nous avons essayé *de créer une méthode systématique applicable dans la plupart des cas, lorsqu'il s'agit d'une analyse phytochimique complète.*

Les fruits de *Haronga* avec leur richesse en corps variés formaient pour une telle étude une matière excellente.

* * *

L'étude de la composition chimique des végétaux, dite « Phytochimie », ne date pas d'hier ; depuis fort longtemps, au contraire, l'homme a cherché à pénétrer la nature de leurs

principes, mû par ce légitime désir de connaître et de comprendre ce qu'on trouve à la base de toute science et qui a engendré tout d'abord les *Sciences naturelles.*

Bien qu'un grand nombre de Chimistes se soient, depuis des siècles, occupés des problèmes phytochimiques, c'est plutôt « l'Académie des Sciences de Paris », qui en l'an 1666, quelques années après sa fondation, publiait la première méthode systématique sur les études de la composition chimique des végétaux.

Plus tard, c'est bien celui qu'on peut nommer l'inventeur de l'Oxygène : C. W. Scheele (1742-1786), qui fut le vrai Père de la Phytochimie. Ce sagace Pharmacien Suédois fut le premier Chimiste qui isola l'acide tartrique, l'acide gallotanique, etc., et entre autres corps obtint l'acide oxalique, ainsi que l'acide benzoïque, l'acide malique, l'acide citrique, etc., chimiquement purs. Au début, les différentes méthodes de Scheele furent peu appréciées car, semblait-il, leur mise en œuvre était difficile.

Pour le développement ultérieur de la chimie des plantes la découverte du premier alcaloïde : *la morphine*, par le Pharmacien Adam Sertürner à Einbeck, en 1811, fut d'une importance considérable. A la suite de son travail remarquable, le prix « Montyon de l'Académie de Paris » lui fut décerné avec le motif suivant : « Pour avoir reconnu la nature alcaline de la morphine et avoir ainsi ouvert une voie, qui a produit de grandes découvertes médicales ».

A partir de ce moment les découvertes des nouveaux alcaloïdes se succédèrent en même temps que le développement des méthodes et l'isolement des autres corps organiques dans le règne végétal faisaient de grands progrès.

Dans les temps modernes, la phytochimie fut un peu délaissée et la passion des chercheurs se porta plutôt sur les synthèses organiques. Pourtant, si on l'envisage suivant la conception moderne, la chimie végétale est d'origine récente: C'est qu'en effet il ne s'agit plus maintenant de retirer d'une plante des principes extractifs plus ou moins vagues et complexes, des corps amorphes plus ou moins purs, mais au contraire, des corps purs, cristallisés possédant une formule chimique.

Or, des obstacles multiples et toujours imprévus surgissent, car il est bien difficile dans cette branche de la chimie d'appliquer les méthodes générales, et l'on n'obtient souvent que des rendements extrêmement faibles, parfois presque nuls, comme si la nature s'obstinait à garder son secret. Enfin, l'incertitude des formules est toujours plus grande dans l'analyse que dans la synthèse, aussi les difficultés sont-elles plus laborieuses à résoudre.

* * *

Les méthodes que nous avons employées et coordonnées en vue d'une analyse Phytochimique complète des fruits du *Haronga*, ont été en partie soigneusement choisies dans la littérature chimique des différents pays et en partie créées par nous.

A cause de l'ampleur du sujet, il ne nous a pas été permis malheureusement de pousser nos recherches aussi loin que nous le désirions. Ayant en effet isolé une trentaine de corps plus ou moins complexes, il nous était difficile de nous appesantir longuement sur chacun d'eux. C'est ainsi que le dosage des différentes substances eût été intéressant, mais dépassait le cadre de ce travail, pour lequel un temps limité nous était donné.

Nous avons divisé notre étude en 3 parties :

Dans la première, nous faisons une description Botanique du *Haronga* ;

la Deuxième est consacrée à son étude chimique ;

la Troisième contient les conclusions.

HARONGA MADAGASCARIENSIS
HYPERICACÉES.

PREMIERE PARTIE.

CARACTÈRE BOTANIQUE DU HARONGA.

Haronga Madagascariensis Choisy :

Synonymes :

Haronga paniculata Lood et Spach.

Arungana paniculata, Pers.

Psorosperum Leonense, Turcz.

Famille : Hypéricacées (Hypéricinées).

Nom indigène : Atsui (pahouin),

en Guinée française : Soumbala ;

au Gabon : Ogina-Gina, ou Guttier du Gabon ;

Madagascar : Harongana ou Haronga à Madagascar.

Répartition : A Madagascar, à Maurice, à la Réunion, et dans une grande partie de l'Afrique tropicale occidentale.

Auteurs à consulter : D. Oliver : Flora of Tropical Africa, Vol. I, p. 160.

A. Chevalier : La Forêt et les bois du Gabon, 1917.

H. Baillon : Histoire des plantes, Vol. V—VI, p. 381.

La famille des Hypéricacées, qui a tiré son nom de celui des Millepertuis (Hypericum) a été établie par A-L De Jussieu en 1789. Elle ne renfermait que les Ascyrum, Brathys et Hypericum.

Choisy publia à Genève, en 1821, *le prodrome d'une monographie des Hypéricinées*, et rédigea l'exposition de cette famille pour le *Prodromus de* A.-P. De Candole ; il y comprit les Haronga, Vismia, Androsœmum, Hypericum, Lancretia, Ascyrum, Carpodontos et Eucryphia. Plus tard on a ajouté à la famille encore quelques genres, et les espèces qu'elle renferme maintenant sont au nombre de deux cents environ ; elles sont assez également réparties dans les deux mondes.

Le Haronga, qui généralement est décrit sous le nom « Haronga Madagascarensis » est un arbuste, parfois un arbre de 12 à 15 mètres de haut, à tronc de 0,15 à 0,40 de diamètre, et long de 3 à 10 mètres sous rameaux, très droit.

L'écorce, de couleur rouille ou gris clair, est revêtue de duvet. Elle est fendillée assez profondément longitudinalement, très mince, et s'enlève par petites plaquettes. Le bois, d'un blanc rougeâtre, peu dense, est très beau, bien veiné, rappelant l'acajou, mais plus léger.

Le Haronga a pour fruit une drupe à cinq noyaux, et dans chacune de leurs loges ovariennes, complètes ou incomplètes, il y a généralement deux et rarement trois ovules ascendants, anatropes, avec le micropyle inférieur et extérieur.

Les feuilles sont opposées, entières, sans stipules et duveteuses. Les fleurs, très nombreuses, sont disposées à l'extrémité des rameaux, en grappes de cymes terminales composées et corymbiformes.

Le Haronga, abondant dans la forêt secondaire, est un des arbustes qui envahissent le plus rapidement l'emplacement des anciennes cultures.

DEUXIEME PARTIE.

ETUDE CHIMIQUE.

Après la description botanique du *Haronga*, nous passons à l'étude chimique des fruits de cette plante.

Nous avons recherché les substances chimiques qu'il était possible d'extraire du fruit. Nous en avons isolé en particulier une matière grasse contenant un alcool phytostérique et un carbure ; puis deux matières colorantes, de la résine, de la gomme, des sucres, des corps visqueux, des acides organiques, etc.

Afin de mieux établir la marche à suivre pour le travail systématique et définitif, nous avons commencé nos recherches par une série d'analyses préliminaires.

A.

RECHERCHES PRELIMINAIRES

§ I. — Analyses préliminaires pour la détermination des corps organiques très communs dans le règne végétal.

Dix grammes de fruits grossièrement pulvérisés sont chauffés à 50° pendant 30 minutes environ, avec une quantité suffisante d'eau distillée. Puis on filtre, et le liquide obtenu sert aux essais suivants :

1° La solution rougit le tournesol bleu, ce qui indique la présence :

a) d'acides,

b) de sels acides.

2° Perchlorure de fer : produit une coloration verte très nette : corps tanniques.

3° Acétate de plomb : donne un précipité blanc qui indique la présence d'une ou plusieurs des substances suivantes :

a) acides,

b) albuminoïdes,

c) gommes (corps visqueux),

d) glucosides,

e) tannin.

4° La solution cupro-alcaline est facilement réduite : présence probable de sucres réducteurs.

5° L'infusion est fortement agitée. La formation d'écume surnageante fait soupçonner la présence de mucilages, tannins, matières albuminoïdes et saponines.

6° Enfin nous avons fait un essai simple pour la détermination de ces corps, qui, dans certaines circonstances, se dédoublent en acide cyanhydrique et en sucres (certains glucosides).

Voici le mode opératoire :

Dans un tube à essai *A* une petite quantité de la matière à essayer est traitée avec quelques centimètres cubes d'eau distillée. On le bouche avec un bouchon auquel est fixée une bande de papier de gaïac. La même opération est faite avec deux autres tubes, *B* et *C*, mais on verse dans le tube *B* un

centimètre cube d'acide sulfurique dilué, et dans le tube *C*, un petit fragment d'émulsine. On les abandonne au repos pendant quelques heures, puis on compare les colorations des différents papiers. Dans les trois cas, les papiers sont devenus faiblement bleus, un peu plus fortement peut-être dans le tube *C*.

Un contrôle est fait avec un autre réactif très sensible de l'acide cyanhydrique : le papier picro-sodique de GUIGNARD.[1]) Les papiers se colorent faiblement en rose.

* * *

Ces essais préliminaires nous ont servi d'orientation dans la marche à suivre, et donné une première idée des corps qui pouvaient ultérieurement être isolés.

Ainsi la réaction acide provient vraisemblablement de ces acides qu'on trouve généralement dans le règne végétal :

Acide tartrique
Acide oxalique
Acide citrique
Acide succinique
Acide malique, etc....

La coloration verte obtenue par addition de perchlorure de fer est un résultat très commun dans un travail phytochimique (tannin, acide oxalique, etc.). En outre, le précipité obtenu par le traitement à l'acétate de plomb, l'écume se produisant par l'agitation et la réduction de la solution cupro-alcaline, indiquent la présence d'une série de corps, plus ou moins complexes, que nous chercherons à déterminer.

En ce qui concerne les essais pour la détermination des glucosides (ou bien des corps se dédoublant en acide cyanhydrique et sucre), on ne peut pas être trop affirmatif ; les réactifs donnent en effet des résultats auxquels il ne faut pas toujours se fier. Des recherches plus exactes ne sont possibles que par des méthodes plus rigoureuses, par exemple la méthode biochimique de BOURQUELOT, la méthode de détermination des alcaloïdes et glucosides d'après STAS-OTTO, la méthode du plomb d'après ROCHLEDER, etc.

Nous avons jugé bon d'élucider, au commencement de ce travail, la question de la présence ou de l'absence de corps

[1]) G. Denigès : Précis de Chimie analytique (1920), page 50.

aussi importants que les alcaloïdes et les glucosides ; il était à craindre en effet que des corps aussi facilement décomposables soient détruits au cours des opérations ultérieures.

---

§ 2. Recherches des Glucosides et des Alcaloides dans la matière a essayer primitive.

1° *Recherche des glucosides d'après* Bourquelot.[1])

Suivant les indications de Mr. Bourquelot, 250 gr. des fruits grossièrement pulvérisés sont traités dans un ballon à fond rond avec de l'alcool maintenu à l'ébullition au B.M. On adapte au ballon un réfrigérant à reflux et le liquide est maintenu à l'ébullition pendant une vingtaine de minutes. Après refroidissement, on filtre et l'alcool est éliminé par distillation sous pression réduite. Puis le résidu est repris par Q S d'eau thymolée, pour obtenir 250 cc. de liquide.

La solution obtenue est partagée en deux portions : l'une, *A*, de 50 cc.; l'autre, *B*, de 200 cc.

A la solution *B*, on ajoute l'enzyme : 0 gr. 20 d'émulsine. Les deux solutions, en fioles bien bouchées, sont portées dans une étuve dont la température est réglée à 25°—30°.

Au bout de 2 jours, on fait un premier essai en prélevant dans les deux fioles 20 cc. de liquide, ajoutant 4 cc. de sous-acétate de plomb, puis filtrant.

Le filtrat sert à la détermination du pouvoir rotatoire et réducteur. Par suite de la présence d'une matière colorante extrêmement intense dans les fruits, ces valeurs, malheureusement, étaient difficiles à déterminer, surtout en ce qui concerne le pouvoir réducteur.

En tout cas, la quantité de sucre était pratiquement la même dans les deux solutions, tant au bout de 2 jours, qu'au bout de 4 jours. Quant au pouvoir rotatoire, nous avons noté une déviation de 0°1 à gauche.

[1]) Denigès : Précis de Chimie analytique (1920), page 297.

2° *Recherche des alcaloïdes et glucosides d'après* STAS-OTTO.[1])

Pour appliquer cette méthode, 100 grammes de la matière à essayer sont additionnés d'environ leur poids d'alcool à 95°, dans lequel on a préalablement fait dissoudre 2 grammes d'acide tartrique. Après avoir abandonné le mélange pendant 24 heures, en matras bouché, à une température de 50°—60°, on sépare le liquide alcoolique en filtrant. Puis l'alcool est éliminé par distillation au B.M., sous pression réduite. Le résidu est repris par de l'eau distillée et filtré. Par suite de la formation d'une solution colloïdale (corps gras, résines, etc.) le filtrat obtenu était fortement trouble. Il en est généralement ainsi en suivant cette méthode. Au lieu de chercher des techniques très compliquées pour éviter ce trouble, nous avons essayé de traiter le liquide avec du kaolin, de la terre d'infusoire, différents silicates, etc. Nous avons obtenu de bons résultats, surtout avec les silicates.

Le filtrat clair et limpide est épuisé immédiatement par l'éther, bien exempt d'alcool. L'épuisement est exécuté dans un entonnoir à séparation et l'éther est séparé par décantation. Le traitement par l'éther est renouvelé une seconde et une troisième fois.[2]) Les solutions éthérées sont finalement réunies et évaporées. Le résidu d'un volume extrêmement petit, est soumis aux expériences suivantes : Un fragment examiné au microscope apparaît sous forme d'une masse amorphe jaune, entremêlée de petits cristaux peu nombreux.

Une solution aqueuse est traitée par les principaux réactifs des alcaloïdes [3]) et glucosides.

A l'exception du réactif d'Erdmann qui produit une coloration rose, les réactifs des alcaloïdes indiqués ci-dessous ont donné un résultat négatif.

---

[1]) Dr. L. Rosenthaler : Der Nachweis organische Verbindungen (1914), page 675.

[2]) La troisième fois en milieu alcalin.
G. Denigès : Précis de Chimie analytique (1920), page 318.

[3]) D'après GADAMER, Lehrbuch der chemischen Toxicologie, page 482, nous avons choisi parmi les differents réactifs les suivants : 1° des acides simples : l'acide picrique et l'acide tannique ; 2° des acides complexes avec composant métalloïdique : iodo-iodé et acide phosphomolybdique ; 3° des acides complexes avec composants métalliques : réactif de MAYER et iodo-bismuthique, ainsi que les réactifs d'ERDMANN, de MARME, de DRAGENDORF, de MILION et de WAGNER.

Comme réactifs des glucosides, nous avons employé : le naphtol additionné de $SO^4 H^2$ concentré [1]) et le réactif de Pettenkofer [2]). Tous deux ont donné des résultats positifs quoique très faiblement. La liqueur cupro-alcaline est directement réduite, et nous n'avons pas observé une réduction plus forte après un traitement à l'ébullition en présence d'un acide.

Il faut donc conclure que de petites quantités de la solution sucrée sont passées, pendant l'épuisement à l'éther, dans la couche éthérée. Les réactifs indiqués plus haut sont extrêmement sensibles, soit vis-à-vis des sucres, soit vis-à-vis des glucosides.

* * *

Après avoir terminé nos analyses préliminaires nous passons à l'étude systématique. Nous avons maintenant une idée des corps qu'il convient de rechercher et de caractériser. En ce qui concerne les glucosides et alcaloïdes, nous avons jugé bon de continuer nos recherches, bien que les essais préliminaires fussent négatifs.

Afin de faciliter la compréhension de ce travail nous commencerons par une description générale de la méthode d'épuisement qui fut employée.

[1]) Dr. L. Rosenthaler, Grundzüge der chemischen Pflanzenuntersuchung (1904), page 17.

[2]) Gadamer, Lehrbuch der chemischen Toxicologie, page 482.

B.

RECHERCHES DEFINITIVES.

Méthode systématique d'extraction.

Les solvants qui ont servi aux épuisements sont : l'éther de pétrole léger, l'éther ordinaire, le chloroforme, l'alcool à 95°, l'alcool à 80°, l'alcool à 60°, l'eau distillée froide, l'eau distillée chaude et l'eau distillée acidulée. Le pétrole employé passait à la distillation entre 30° et 50°.

Pour obtenir l'éther et le chloroforme sans alcool et sans eau, on les traite d'abord plusieurs fois avec de l'eau distillée dans un entonnoir à séparation, puis on les abandonne au repos pendant quelques semaines en présence d'une forte quantité de chlorure de calcium fraîchement calciné. Enfin, les liquides sont soumis à la distillation.

Nous avons fait *un premier essai* en employant 40 grammes de fruits grossièrement pulvérisés. En épuisant la matière successivement par les solvants indiqués plus haut, on obtient une série d'extraits plus ou moins nets, mais tous différents.

Les extractions à l'éther de pétrole, à l'éther éthylique et au chloroforme sont exécutées au B.-M. dans un appareil de Soxhlet. La matière à essayer est laissée en contact avec les différents solvants pendant 24 heures environ, ou bien jusqu'à ce qu'une prise d'essai, évaporée à sec, ne laisse plus de résidu.

Nous avons fait les observations suivantes :

Lorsqu'on distille à sec la solution pétrolique (il est bon d'achever l'opération avec l'aide du vide, car l'extrait retient énergiquement les dernières portions du dissolvant), on obtient un extrait huileux, de couleur rouge brun, d'odeur forte, mais agréable, se modifiant par refroidissement en une masse de consistance butyreuse et d'aspect cristallin (la quantité était de 3 grammes 60, ce qui correspond à environ 90 gr. par kilogramme de fruits).

Par les traitements avec l'éther et le chloroforme, nous avons obtenu des extraits d'aspect semblable, c. a. d. des résidus résineux de couleur brun noir. La durée des traitements (qu'on peut considérer comme terminés lorsque le liquide s'écoule incolore) est d'une vingtaine d'heures (les quantités étaient

respectivement environ 24 grammes et 10 grammes par kilogramme de fruits).

Les épuisements par l'alcool à 95°, 80° et 60°, sont exécutés par ébullition au B.-M. dans un ballon muni d'un réfrigérant à reflux. Les traitements sont répétés jusqu'à ce que la dernière portion de l'alcool soit incolore. Après distillation de l'alcool à 95°, on obtient un extrait mou, rouge foncé et odorant. (La quantité de cet extrait atteint 285 grammes par kilogramme de fruits.)

Par élimination de l'alcool à 80° et à 60° (d'abord par distillation, puis par évaporation au B.-M.) on obtient des résidus épais, brun foncé. Les quantités calculées par kilogramme de fruits étaient respectivement 15 gr. et 13 grammes. Enfin, la plante est d'abord mise à macérer dans l'eau distillée froide, puis maintenue à l'ébullition pendant quelque temps avec une nouvelle quantité d'eau, et pour achever l'épuisement systématique, la matière à essayer est soumise à une macération dans l'eau froide acidulée.

Dans les trois cas, nous avons obtenu par évaporation à sec au B.-M., des résidus friables de couleur brun clair (respectivement environ 13 gr., 6 gr. et 23 grammes par kilogramme de fruits).

En résumé, les épuisements préliminaires nous ont montré que c'est l'éther de pétrole et l'alcool à 95° qui enlèvent aux fruits le plus de substances : celles-ci sont surtout constituées par des corps gras et des sucres.

Afin de pouvoir étudier d'une manière aussi détaillée que possible ces corps certainement les plus importants dans le fruit du Haronga, nous nous sommes borné la plupart du temps aux extraits obtenus par l'éther de pétrole et l'alcool à 95°.

Toutefois pour compléter nos recherches et afin de ne laisser échapper aucune substance chimique intéressante, nous avons fait agir aussi des autres solvants, et au total nous avons employé :

1° l'éther de pétrole	4° l'alcool à 95°
2° le chloroforme	5° l'eau distillée froide
3° l'éther éthylique	6° l'eau distillée acidulée

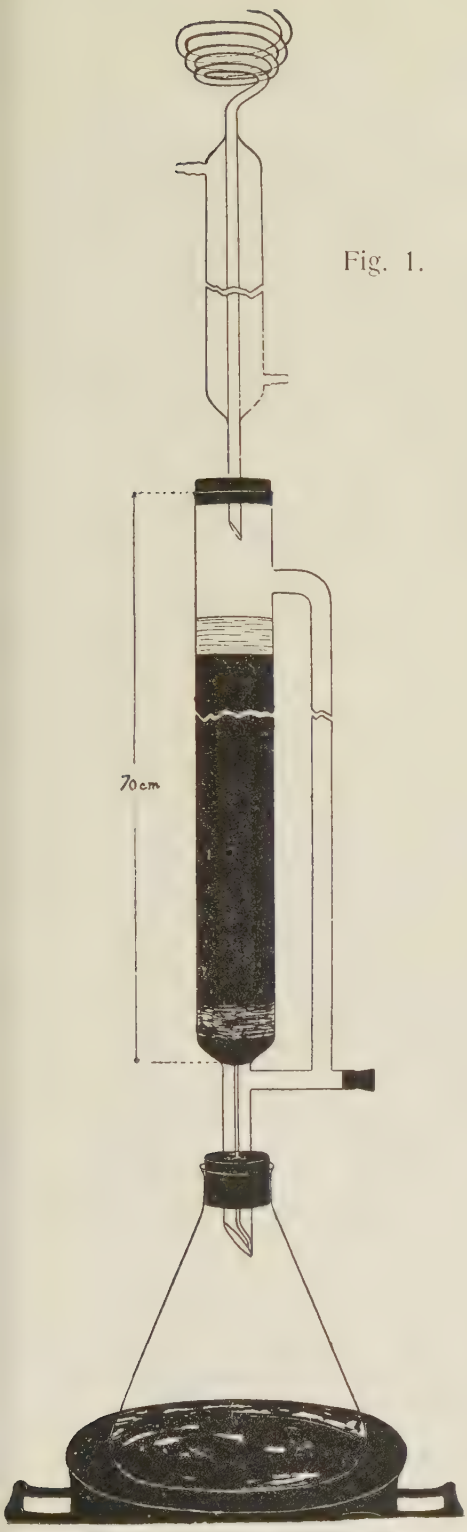


Fig. 1.

§ 1.

Épuisement a l'éther de pétrole (30°—50°).

Dans un moulin on pulvérise grossièrement 2 kilogrammes de fruits du Haronga soigneusement nettoyés.

L'épuisement est exécuté au moyen de quatre appareils à extraction continue, munis de grands réfrigérants à reflux (Fig. 1).

Le chauffage est fait au moyen de réchauds électriques réglables. Afin d'obtenir une étanchéité satisfaisante, les bouchons et les raccords sont soigneusement mastiqués.[1]) L'extraction est faite en deux temps: le premier a une durée de 13 heures environ, au bout de laquelle la matière à épuiser est sortie (pour remédier à une formation éventuelle de fausses voies dans la masse) puis tassée à nouveau dans l'appareil.

[1]) A la suite d'une série d'expériences pour obtenir un mastic favorable, nous sommes arrivé à la composition suivante: Dans un mortier en porcelaine contenant une certaine quantité de talc, on ajoute en triturant une quantité suffisante de silicate de soude pour obtenir une masse homogène pâteuse. Aussi rapidement que possible on en couvre les bouchons. Puis la couche de mastic est polie au moyen d'une spatule plongée dans le silicate de soude. Durcissant très vite, ce mastic est capable de résister à tous les dissolvants organiques et en outre applicable à une tempèrature quelconque. Il s'enlève facilement en le traitant par l'eau.

La deuxième extraction pour laquelle on a employé une nouvelle quantité d'éther de pétrole a duré une vingtaine d'heures environ (jusqu'à ce qu'une prise d'essai évaporée à sec ne laisse plus de résidu).

Les extraits obtenus sont réunis. Ils forment un liquide brun foncé qui est abandonné au repos, dans un endroit froid. Au bout de quelques jours, il se dépose sur le fond du ballon une certaine quantité de cristaux blanc jaunâtre. Ils sont séparés par filtration, puis lavés sur le filtre avec quelques centimètres cubes d'éther froid.

Le filtrat est concentré un peu au B.-M., puis abandonné de nouveau au repos. En répétant ces opérations jusqu'à ce que l'eau-mère ne donne plus de cristaux, nous avons obtenu une masse cristalline assez grande. (L'extrait pétrolique, contenant essentiellement des corps gras, est mis de côté pour un examen ultérieur, page 26.)

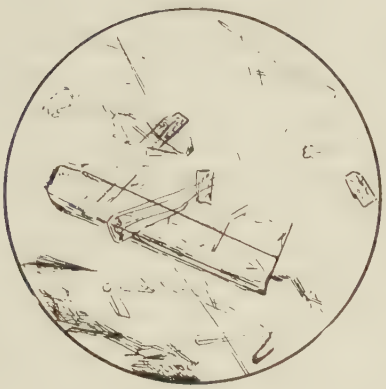
Substance Cristalline
obtenue par épuisement à l'éther de pétrole.

Ce corps, d'une teinte jaunâtre, est composé de petits cristaux en forme d'aiguilles. Par cristallisations successives dans l'éther de pétrole (point d'ébullition : 60°—80°), nous avons obtenu une substance d'un blanc de neige, en cristaux très nets. Par suite de la présence d'une matière colorante dans le liquide pétrolique, la purification de la substance se trouvant dans l'eau-mère était très difficile à exécuter.

Cependant, nous avons observé que ce corps colorant se dissout facilement dans une solution aqueuse de soude caustique. En conséquence, et afin d'obtenir une quantité aussi grande que possible de cristaux purs, l'eau-mère, fortement colorée en brun, est traitée dans un entonnoir à séparation avec un volume égal d'une solution aqueuse de soude de 1%.

Dans ces conditions la matière colorante passe facilement dans la couche aqueuse sodique, que l'on soutire. L'éther de pétrole, devenu parfaitement clair et limpide, est ensuite recueilli et évaporé à sec. La substance pure, obtenue par l'une ou l'autre méthode, est examinée comme suit :

Fig. 2.



1° *Au microscope* : Elle apparait sous forme de larges lamelles à contours hexago-'xnɐu ou bien sous forme de grandes aiguilles simples, ou revêt encore l'aspect d'arborescences en croix, suivant les conditions dans lesquelles s'est faite la cristallisation. Ces formes cristallines sont également obtenues par recristallisation dans l'éther et dans le chloroforme.

En employant de l'alcool à 95°, dans lequel la substance se dissout à l'ébullition en petites quantités, nous avons obtenu des cristaux ayant l'aspect d'aiguilles en arborescences étoilées, ou bien des feuilles de palmier. Les formes des cristaux de notre substance ressemblent beaucoup à celles qui sont indiquées pour les différentes cholestérines végétales lévogyres, connues jusqu'à ce jour.

2° Un petit fragment de la substance calciné sur une lame de platine ne laisse pas de résidu : par conséquent, elle est exempte de corps minéraux.

3° Détermination du point de fusion :

a) par le bloc de Thièle : 246°;

b) par l'appareil von Roth [1]) : 250°—252°.

4° La solubilité dans une série de solvants se présente comme suit :

Dissolvants	A Froid	A Chaud
Ether de pétrole	Peu soluble	Soluble
Ether ordinaire	Peu soluble	Soluble
Chloroforme	Facilement soluble	Facilement soluble
Ether acétique	Peu soluble	Soluble
Alcool à 95°	Très peu soluble	Très peu soluble
Acétone	Très peu soluble	Peu soluble
Benzène	Facilement soluble	Facilement soluble
Eau, Acides, Alcalis	Insoluble	Insoluble

[1]) Acide sulfurique et bain d'air : H. Meyer : Analyse und Konstitutionsermittlung, 3 tirage (1916), page 108.

Les différentes solutions organiques ont une réaction neutre.

5° *Recherche de l'Azote.* — Elle fut faite d'après la méthode de Lassaigne. Nous avons suivi les indications données par MM. Bertrand et Thomas [1]) seulement au lieu de sodium nous avons employé du potassium. Deux essais ont donné des résultats négatifs.

6° *Soufre.* — Les solutions obtenues suivant la méthode de Lassaigne ont servi à la recherche du soufre. Ce métalloïde, s'il est présent, se trouve alors sous forme de sulfhydrate de potassium. Cette combinaison donne avec l'ammoniaque et le nitroprussiate de sodium une vive coloration violet bleu. Mais nous n'avons pu obtenir aucun changement de couleur. Donc, absence de soufre.

7° *Absorption du brome.* — Une solution chloroformique du corps est additionnée goutte à goutte d'une solution de brome également dans du chloroforme. La coloration jaune (provenant du brome) disparait après quelques instants. Le liquide devenu clair et transparent est évaporé à sec. Puis les cristaux jaunes restant sur le fond du ballon sont lavés à l'eau distillée jusqu'à ce que l'eau de lavage ne donne plus de précipité avec quelques gouttes d'une solution aqueuse d'azotate d'argent. Le produit obtenu est examiné au point de vue du brome d'après la méthode de Beilstein [2]) : Un mélange d'oxyde de cuivre et de la matière à essayer porté sur un fil de platine dans la flamme d'un bec Bunsen donne une vive coloration verte.

Par conséquent, il s'agit d'une substance non saturée. Cette propriété est retrouvée chez les cholestérines des végétaux, et c'est à elle que sont dues de nombreuses réactions colorées. Voici quelques-unes de ces réactions exécutées sur notre substance:

8° *Réactions colorées.*

a) Réaction de Liebermann. — Une petite quantité de la substance (3 centigrammes), est dissoute dans 3 cc. d'anhydride acétique, et additionnée de quelques gouttes de $SO^4 H^2$ concentré, en refroidissant ; il se produit une belle coloration rose-violet, devenant rapidement par chauffage, violet pourpre, puis brune.

[1]) Gab. Bertrand et P. Thomas : Guide pour les manipulations de chimie biologique, 3e Edition (1919), page 4.

[2]) Berichte d. Deutschen chemischen Gesellschaft (5) 620 (1872).

(Dans beaucoup de cholestérines végétales, la gamme des colorations est un peu différente : violette, bleue, verte, etc.)

b) *Réaction de Hesse-Salkowsky.* — 0 gr. 03 du produit sont dissous dans 3 cc. de chloroforme et additionnés d'un égal volume de $SO^4 H^2$. On agite et on abandonne au repos. Il se forme au bout de quelques minutes, entre les deux couches, une zone rouge brun. Après agitation pendant quelques instants, l'acide sulfurique se colore en jaune orangé.

La couche chloroformique reste incolore, tandis qu'il se présente une fluorescence verte, après chauffage.

c) *Réaction de Hirschsohn.* — La substance chauffée avec un mélange d'acide trichloracétique et d'acide chlorhydrique (deux gouttes d'acide chlorhydrique plus un gramme d'acide trichloracétique) ne donne pas de coloration.

d) *Réaction de Tschugaeff.* — La substance est chauffée au B.-M. pendant 5 minutes avec un mélange d'acide acétique cristallisable, de chlorure d'acétyle et de chlorure de zinc : la liqueur se colore en jaune.

e) *Réaction de Marche.* — La substance additionnée d'un mélange d'acide chlorhydrique concentré et de quelques gouttes de perchlorure de fer est évaporée à sec au B.-M. Par lavage du résidu avec de l'eau distillée il se produit une coloration rouge.

f) *Réaction de Gerard.* — La substance additionnée de $SO^4 H^2$ et d'$H^2 O$ donne un résultat négatif.

9° *Pouvoir Rotatoire.* — Une solution chloroformique (0,286 gr. dans 1 gr. de chloroforme) examinée au polarimètre était inactive.

Les propriétés cristallines, la solubilité dans les différents solvants organiques et la plupart des réactions colorées montrent bien que le composé examiné possède les caractères des cholestérines végétales lévogyres connues jusqu'à ce jour.

Mais si on envisage les autres propriétés déterminées : le point de fusion très élevé et le pouvoir rotatoire nul, on voit pourtant qu'il ne s'agit pas d'une phytostérine ordinaire. A cause du point de fusion très élevé, on peut supposer qu'il s'agit d'un éther, aussi avons-nous essayé de faire une saponification.

10° Cette opération est exécutée d'une façon spéciale : 0 gr. 141 de la substance est maintenue à l'ébullition au B.-M. (réfrigérant à reflux) pendant six heures environ avec 20 cc. (exactement mesurés) d'une solution alcoolique de potasse caustique, à peu près normale. Au bout de ce temps et après refroidissement du liquide, on ajoute quelques gouttes d'une solution alcoolique de phénol-phtaléine, puis un excès d'acide chlorhydrique (46 cc. 2 d'une liqueur chlorhydrique à 0 gr. 26 p. 1000). L'excès d'acide, titré en retour avec une solution N/10 de Na O H, est égal à 0 cc. 30.

Un essai fait à blanc dans les mêmes conditions donne exactement les mêmes résultats. Par conséquent notre corps n'a mis aucun acide en liberté. Pour récupérer la substance ainsi traitée, le liquide résultant du titrage et dilué avec une quantité d'eau distillée, est épuisé par du chloroforme. L'épuisement est renouvelé à 3 reprises, puis les solutions chloroformiques sont réunies et évaporées à sec dans une capsule en verre tarée.

Le résidu est pesé :

Substance avant saponification.....	0 gr. 1410
» après »	0 gr. 1390
Perte	0 gr. 0020

Le corps régénéré est soumis aux essais suivants :

a) Détermination du point de fusion : 246° ; après une récristallisation dans l'éther de pétrole : 250°.

b) Réaction de Liebermann (p. 22) ; coloration rose-violet.

c) Réaction de Hesse-Salkowsky : l'acide sulfurique se colore en jaune orange ; le chloroforme reste incolore.

d) Réaction de Hirschsohn : résultat négatif.

e) La solubilité dans les différents solvants (indiqués page 18) correspond à celle trouvée pour la substance primitive.

En somme, nous avons trouvé un corps d'un aspect cristallin comparable à celui des phytostérines connues, d'un caractère non saturé, et non saponifiable, donnant les réactions colorées propres aux phytostérines, d'un point de fusion très élevé et d'un pouvoir rotatoire nul. *Par conséquent, il s'agit nettement d'une alcool polyvalent d'un caractère phytostérique.*

L'alcool oppose une certaine résistance aux différents agents chimiques. Nous avons essayé de déceler sa nature alcoolique par la formation d'un éther : le dérivé acétique. — Pour cet essai, nous avons employé soit le chlorure d'acétyle et le chlorure de zinc [1]), soit l'anhydride acétique [2]), mais sans résultat positif. La quantité restant de substance ne nous a malheureusement pas permis des essais ultérieurs pour éclaircir cette question.

11° *Analyse.*[3]) — Cet alcool soumis à l'analyse élémentaire, donne les chiffres suivants :

Sur 3^m, 081 : 84,88% C
11,98% H
3,14% O.

C. M. Beneke [4]) qui isola une des premières phytostérines, donne pour la composition élémentaire :

C : 84,1%
H : 12,1%
O : 3,8%

---

[1]) Meyer : Analyse u. Konst. ermit. (1916), p. 522.
[2]) Meyer : Analyse u. Konst. ermit (1916), p. 522.
[3]) Microanalyse.
[4]) Zeitschrift f. Nahr. u. Genussm. 1898, p. 23.

La matière colorante dans l'extrait pétrolique.

Nous avons eu la chance de pouvoir isoler une petite quantité du corps colorant obtenu dans l'épuisement avec l'éther de pétrole. Nous donnons dans la suite un résumé de nos recherches sur la caractérisation de ce corps.

Toutefois à cause des quantités minimes que nous avons eues à notre disposition, et en présence d'un sujet aussi compliqué que celui des matières colorantes, il ne nous a pas été possible d'établir une détermination absolument complète.

Comme il a été indiqué page 20, le liquide obtenu par l'extraction à l'éther de pétrole était coloré en brun foncé.

L'extrait, abandonné au repos pendant quelques semaines, laisse déposer peu à peu une poudre brune. Celle-ci est séparée par filtration et lavée sur le filtre avec de l'éther de pétrole froid. La matière obtenue apparait au microscope, en partie sous forme de petits grains jaunes, en partie sous forme de masses amorphes brunes. Les uns et les autres étaient peu solubles dans l'éther de pétrole et l'éther ordinaire, très solubles au contraire dans le chloroforme et l'acétone, insolubles dans l'alcool à 95° et l'eau.

L'acide sulfurique concentré donne une coloration rouge brun vive. Les réactions colorées phytostériques (page 22) sont positives d'une façon extrêmement nette. Une solution, non seulement alcoolique, mais encore aqueuse, de potasse ou de soude ou d'ammoniaque produit une belle coloration rouge vin, qui devient violette par dilution avec de l'eau, et se change en jaune par addition d'un acide en excès. Ce caractère colorant disparait avec le temps. Nous avons comparé les caractères de ce corps, qui peut-être n'est pas simple, avec ceux qui sont indiqués pour les différentes matières colorantes accompagnant les corps gras.

Czapek [1]), par exemple, indique que les « Lipochromes » presque toujours présents dans les matières grasses des végétaux, doivent être considérés comme les hydrocarbures non

[1]) Czapek : Biochemie der Pflanzen VI (1913), page 803.

saturés (comparer les réactions phytostériques) qui, abandonnés dans l'air, absorberaient de l'oxygène. Ce groupement des matières colorantes cependant, est très peu étudié.

* * *

L'extrait pétrolique est examiné au point de vue de la présence des alcaloïdes et glucosides de la façon suivante :

La liqueur est épuisée dans un entonnoir à séparation avec une certaine quantité d'eau acidulée. La couche aqueuse est additionnée de soude caustique jusqu'à réaction alcaline. On l'épuise immédiatement par l'éther de pétrole pur. La solution pétrolique recueillie est filtrée, puis évaporée à sec.

Le résidu obtenu en quantité minime apparait au microscope en partie sous forme d'une masse amorphe jaune, en partie sous forme de petits cristaux irréguliers. Une solution aqueuse du résidu fut traitée avec les réactifs des alcaloïdes et glucosides, indiqués page 15 ; les résultats furent négatifs.

Le corps gras.

La liqueur pétrolique épuisée par l'eau acidulée, est évaporée à sec au B.-M. sous pression réduite. La masse obtenue, 150 grammes environ, constitue une matière rouge brunâtre, fluide à chaud et prenant par le refroidissement la consistance du beurre de cacao.

Examinée au microscope, la masse apparait sous forme d'une matière rouge homogène, entremêlée de petits cristaux (en aiguilles).

Le corps gras brut, est repris par l'éther de pétrole en vue d'obtenir sa décoloration. Dans ce but, le liquide est légèrement chauffé au B. M., 30 minutes environ, avec 40 grammes de charbon animal. La liqueur est filtrée et le charbon lavé plusieurs fois avec de l'éther de pétrole chaud.

La solution obtenue après ce traitement était nettement plus claire, c. à d. rouge orange, mais non encore suffisamment décolorée pour permettre l'exécution des différentes recherches physiques et chimiques sur le corps gras. Aussi avons-nous essayé d'autres procédés de décoloration, par exemple le carbonate de chaux [1]) en nous servant des solvants appropriés.

[1]) Tswett : Ber. Bot. Ges. 24 (1916), p. 316.

Le meilleur résultat est encore atteint par traitement au charbon en milieu éthéré. Malheureusement, à la suite de cette opération et malgré les lavages les plus soignés du charbon employé, la quantité du corps gras recueilli n'est plus que la moitié du poids mis en œuvre.

Après avoir éliminé l'éther par distillation dans le vide, nous sommes arrivé à une matière huileuse, aromatique, d'une coloration rouge-orange clair.

Pour l'exécution des analyses suivantes, la moitié de la matière obtenue fut employée.

I. Propriétés physiques.

a) L'*aspect microscopique* est tantôt celui d'aiguilles simples, tantôt d'aiguilles réunies en pinceaux ou branches de genêts plongés dans une matière homogène, jaune verdâtre.

b) *Consistance.* — Etant donné la constitution de ce corps gras, les points définis de congélation et de fusion étaient difficiles à déterminer.

Voici les aspects présentés aux différentes températures :

Au-dessus de 40° : huile liquide et limpide. Vers 36°, commence une formation de petits cristaux, formation qui s'accentue avec l'abaissement progressif de la température, en même temps que la consistance de l'huile devient plus épaisse. A 10°, la consistance est celle de l'huile de ricin ; à 0°, celle du beurre. L'aspect ne change pas grandement par un abaissement plus grand de la température.

c) *Solubilité de la matière grasse* : très soluble dans le chloroforme, l'éther de pétrole, l'éther ordinaire, et le tétrachlorure de carbone ; moins soluble dans l'éther acétique froid ; peu dans l'alcool à 95° froid. Une solution claire de la matière dans les deux derniers solvants, obtenue par chauffage au B. M.,

se trouble fortement par refroidissement et abandonne un précipité blanc jaunâtre (confronter p. 30).

d) *Détermination du poids spécifique.* A cause de la consistance huileuse, un pycnomètre est employé avec avantage :

$+20^{o} = 0{,}9389$
$+\ 4^{o} = 0{,}9373$

e) *Détermination de l'indice d'acide* : Le titrage est extrêmement difficile à cause de la matière colorante :

1° 9,91
2° 9,70
3° 10,16

Soit une moyenne de : 9,92

f) *Détermination de l'indice de saponification* :

1° 213,25
2° 208,13

Soit une moyenne de : 210,69

g) *Détermination de l'indice d'iode* :

1° 145,34
2° 145,43

Soit une moyenne de : 145,39

h) *L'indice de Reichert-Meissl et de Polenske.* Pour faire les déterminations de l'indice de R.-M. et de P., dans un seul et même essai, nous nous sommes servi de la méthode indiquée par von Polenske [1]). Nous avons employé *l'appareil spécial* construit par l'auteur et possédant exactement les mesures indiquées :

R.-M. 4,097
P. 0,3

Un autre essai malheureusement fut perdu par suite des impuretés des réactifs, et la quantité de la matière à essayer n'était pas suffisante pour une nouvelle détermination.

i) *Indice de réfraction.* — Appareil : Butyro-réfractomètre (Zeiss) à 25° : 79,7, avec un bord de dispersion bleu.

Pour comparer :

Huile de coton	67,6—69,4
» d'arachides	65,8—67,5
» café	76,5—79,3

[1]) Dr. A. Beythin : Nahrungsmitteluntersuchung, Vol. I (1914), page 275.

Huile de lin	87,5
» d'amande	64 —64,8
» d'olive	62 —62,8
» de Sesame	67 —69
» de foie de morue	75

II. Propriétés chimiques.

Nous aborderons maintenant l'étude de la composition chimique du corps gras.

Afin de pouvoir obtenir une séparation ultérieure des corps cristallins se trouvant dans la matière grasse (Confr. l'étude microscopique page 28) nous nous sommes servi de la solubilité différente du corps gras dans les divers solvants (page 28).

Nous avons indiqué que la matière se dissout à chaud, complètement dans l'éther acétique, et jusqu'à un certain point aussi dans l'alcool à 95°. Ces solutions donnent par refroidissement un précipité blanc.

Précipité obtenu par traitement a l'alcool.

Ce qui reste du corps gras (30 grammes environ) est maintenu à l'ébullition (avec réfrigérant à reflux) 20 minutes avec 60 cc. d'alcool à 90°. Le liquide ayant été abandonné au repos jusqu'à refroidissement complet, il s'est formé deux couches : En bas se trouve la majeure partie du corps gras, qui apparait intact ; en haut surnage la couche alcoolique fortement troublée et colorée en jaune clair. Le traitement par l'alcool à 90° est renouvelé une deuxième et une troisième fois. Les solutions alcooliques sont isolées par décantation, réunies et enfin concentrées au B. M. Par dilution avec de l'eau distillée, le liquide donne après refroidissement un précipité blanc, floconneux, en même temps qu'une certaine quantité du corps gras s'est déposée au fond du ballon.

Le dépôt est isolé par filtration, puis recristallisé deux fois dans de l'éther acétique. Encore imprégné du dissolvant, il apparait sous forme de paillettes argentées. Ce bel aspect cependant disparait à l'état sec, et le produit se présente en masse friable, légère, d'un blanc de neige, ne dépassant guère

2 centigrammes. Il se dissout facilement dans le chloroforme et le benzol ; il est moins soluble dans l'éther de pétrole, et l'éther ordinaire ; peu soluble dans l'alcool à 95° et l'acétone, même à chaud. Avec les réactifs des phytostéroles : résultats négatifs.

L'acide sulfurique concentré donne à chaud une coloration rouge brun. Point de fusion 58°.

Précipité obtenu par traitement à l'héther acétique.

La matière grasse, épuisée à l'alcool, est séchée au B. M., puis reprise par l'éther acétique froid. Le corps gras pur se dissout facilement, tandis qu'un précipité floconneux, très volumineux, reste insoluble. Il est séparé par filtration et lavé sur le filtre avec quelques centimètres cubes d'éther acétique froid.

Après répétition de ces opérations, une deuxième et une troisième fois, nous avons finalement obtenu environ 0 gr. 10 d'un corps ayant un aspect identique à celui de la substance obtenue par le traitement à l'alcool.

Ce corps a été recristallisé dans l'éther acétique jusqu'à point de fusion constant : 64°.

Les réactions phytostériques sont négatives. L'acide sulfurique concentré produit une coloration rouge brun.

La solubilité correspond à celle qui est indiquée pour le corps précédemment décrit.

A l'analyse [1]), il donne les chiffres suivants :

sur 4 mg. 717 H. 14,98%
C. 84,85%

On voit par ces chiffres qu'on se trouve en présence d'un carbure saturé comme il en fut déjà rencontré un certain nombre dans divers végétaux.

Saponification du corps gras.

Les matières grasses sont constituées par un mélange d'éther-sels dans lesquels l'alcool triatomique, glycérine, est uni aux divers acides gras.

[1]) Microanalyse.

Ainsi, après les expériences de synthèse de BERTHELOT, la stéarine, qui a pour formule $C^3 H^5 (O\, C^{18} H^{35} O)^3$, est l'éther tristéarique de la glycérine ou le tristéarate de glycéryle. Sous l'action des hydrates alcalins, il y a décomposition de la stéarine avec formation de stéarate alcalin et de glycérine.

La réaction est la suivante :

$$C^3H^5\begin{cases}O—CO—C^{17}H^{35}\\O—CO—C^{17}H^{35}\\O—CO—C^{17}H^{35}\end{cases} + 3NaOH = C^3H^5\begin{cases}OH\\OH\\OH\end{cases} + 3C^{17}H^{35}Co.oNa$$

Stéarine + soude = glycérine + Stéarate de sodium

L'oléine et la palmitine ont une constitution analogue. Tous ces corps ont reçu le nom de glycérides. La composition des corps gras, mélange de glycérides, peut donc varier à l'infini, selon la nature et la proportion de ceux-ci.

Les *savons* sont des sels d'acides gras obtenus par la saponification des matières grasses à l'aide des alcalis.

Pour se faire une idée des propriétés du corps gras des fruits du Haronga, il est tout naturel de s'en servir pour la préparation d'un savon.

La glycérine est ainsi mise en liberté, en même temps qu'on peut isoler les acides gras concrets à l'état de sels alcalins par addition de chlorure de sodium.

Les acides gras volatils sont séparés par distillation, en milieu acide. On obtient ainsi un résidu insaponifiable, contenant en général des phytostérines, des alcools polyvalents, des carbures, etc.

La littérature est très riche en indications sur la saponification des matières grasses. Afin de pouvoir créer une marche applicable à notre cas, nous avons examiné et essayé une série de méthodes et nous nous sommes arrêté à celle indiquée par A. BOEHMER [1]), qui nous a fourni de bons résultats.

Les indications données ci-dessous, se rapportent à une opération faite avec 15 grammes du corps gras :

La quantité de la matière à essayer est pesée dans une fiole conique de 500 grammes. Après addition de 30 grammes de potasse alcoolique (2 gr. de potasse + 10 gr. d'alcool à 70°), la fiole munie d'un réfrigérant ascendant, est portée au B.-M.

[1]) A. BOEHMER : Zeitschrift f. Nahr.- u. Genussm. (1898), page 38.

Au commencement on agite la fiole fréquemment et fortement jusqu'à ce que la liqueur soit devenue claire. On maintient à l'ébullition pendant une heure environ. Puis on transvase le savon encore chaud, dans une ampoule à décantation de 500 cc. Le savon resté dans la fiole conique est entraîné dans l'ampoule à l'aide de 60 cc. d'eau distillée.

Après refroidissement, la liqueur est fortement agitée avec 150 cc. d'éther ordinaire (l'épuisement doit être maintenu pendant 1 à 2 minutes) ; ensuite, on abandonne le liquide au repos pendant 10 minutes environ. La solution éthérée, bien séparée, est isolée à l'aide d'une ampoule à décantation. L'épuisement à l'éther est renouvelé une deuxième et une troisième fois, respectivement avec 60 grammes et 40 grammes d'éther.

(*Nota* : La solution aqueuse du savon épuisée est mise de côté pour un traitement ultérieur ; voir page 36.)

Matière insaponifiable. —

Les solutions éthérées sont réunies et l'éther est éliminé par distillation. Le résidu obtenu par cette opération forme une masse de la consistance du beurre, colorée en jaune brun, et entre-mêlée de petits cristaux jaunes. Pour obtenir une saponification complète le résidu est de nouveau soumis au traitement par la potasse alcoolique (3 cc.) d'après les indications données plus haut.

On épuise ensuite avec 50 cc. d'éther, et le liquide éthéré, après séparation, est lavé plusieurs fois avec des petites quantités d'eau distillée.

Enfin on concentre fortement la solution éthérée, et l'abandonne au repos pendant quelques heures, dans une fiole bien bouchée. Au bout de ce temps, il s'est formé un précipité blanc jaunâtre, qui examiné au microscope se présente sous formes d'aiguilles réunies à des masses globuleuses.

Les cristaux (*substance insaponifiable* 1°), sont séparés par filtration et lavés sur le filtre avec une petite quantité d'éther bien froid. Le rendement était 3 cg. environ, et le point de fusion: 245°. Après diverses recristallisations dans l'éther de pétrole, on obtient un produit d'un blanc de neige, d'un aspect cristallin correspondant à celui qui est indiqué pour l'alcool phytostérique, page 20.

Le corps soumis à l'analyse a fourni les résultats suivants : Réaction colorées :

1° Réaction de Liebermann : coloration rose-violacé.

2° Réaction de Hesse-Salkowsky : l'acide sulfurique se colore en jaune orange, le chloroforme après chauffage donne une fluorescence verte.

3° Réaction de Hirschsohn : résultat négatif.

La substance est très soluble dans le chloroforme et le benzène, moins soluble dans l'éther ordinaire, très peu dans l'alcool méthylique et l'alcool éthylique à 95°.

Elle se combine au brome.

Ce corps soumis à l'analyse élémentaire donne les chiffres suivants :

Sur 3 mg. 147 : H 11,90%
C 84,60%
O 3,50%

Par conséquent, si on compare ces chiffres avec le résultat obtenu par l'analyse élémentaire de l'alcool phytostérique (page 25) et si on envisage l'analogie des propriétés générales de ces corps, nous sommes sûrement arrivé à isoler le reste de cette substance insaponifiable, déjà obtenue en quantités assez grandes par une concentration simple de l'éther pétrolique primitif.

*

La solution éthérée concentrée dont on vient d'isoler le corps insaponifiable est évaporée au B. M.

Le résidu est additionné de 100 cc. d'alcool 95° et on porte à l'ébullition (avec réfrigérant à reflux) au B. M., pendant 30 minutes. On filtre le liquide chaud et le filtrat est abandonné au repos jusqu'à refroidissement complet. Il se forme un précipité floconneux, coloré en gris brun :

Substance insaponifiable 2°. —

Le produit est séparé par filtration, et on concentre un peu le liquide alcoolique. Par plusieurs concentrations et filtrations nous avons obtenu 4 cg. de cette substance. Elle est facilement soluble dans l'éther acétique chaud, peu soluble au contraire dans le même dissolvant froid.

En traitant le corps avec l'éther acétique, nous avons de nouveau remarqué le bel aspect argenté indiqué pour le carbure isolé page 31.

Comme le point de fusion est 64°, nous sommes sans doute arrivé au même corps, ce que les analyses suivantes confirment :

Réactions phytostériques : négatives. — Acide sulfurique concentré : donne par chauffage une coloration rouge.

La substance, bien séchée dans un exsiccateur à vide, soumise à l'analyse élémentaire donne les résultats suivants :

Sur 3 mg. 670 : 14,41% H
84,95% C
0,64% O

Si on compare ces chiffres à ceux qu'indique la théorie pour les carbures de C^{27} à C^{35} (tels sont en effet les poids moléculaires donnés par les essais cryoscopiques de M. Ehrwein)[1]), on voit qu'il y a un léger déficit tant sur le carbone que sur l'hydrogène. Le calcul donne en effet les chiffres suivants :

	$C^{27}H^{56}$	$C^{28}H^{58}$	$C^{29}H^{60}$	$C^{30}H^{62}$	$C^{31}H^{64}$	$C^{32}H^{66}$	$C^{33}H^{68}$	$C^{34}H^{70}$	$C^{35}H^{72}$
C	85.26	85.27	85.29	85.30	85.32	85.33	85.34	85.35	85.36
H	14.74	14.73	14.71	14.70	14.68	14.67	14.66	14.65	14.64

Des déficits de ce genre ont été signalés dans les analyses de différents carbures végétaux ; la paraffine du commerce elle-même renferme souvent 1% d'oxygène.[2]).

Il est donc possible que, dans ces composés naturels, il existe une trace de corps oxygénés, par exemple d'alcools semblables à ceux isolés des fruits du *Haronga*, et peut-être difficiles à éliminer.

La solution alcoolique, d'où nous avons extrait le carbure, est évaporée à sec à l'aide du vide.

On obtient un résidu mou, brun foncé. Il est de nouveau soumis à une saponification, cette fois maintenue à l'ébullition au réfrigérant à reflux pendant 7 heures avec de la potasse alcoolique. Cependant, nous n'avons pu observer une saponification ultérieure.

L'extrait *(Substance insaponifiable* 3°) se prend en masse avec le temps, et forme alors une matière résineuse d'une odeur aromatique.

[1]) M. R. Ehriwein : Etude de quelques hydrocarbures saturés d'origine végétale. — Thèse pour le Doctorat d'Université, Pharmacie, Nancy, 1910.

[2]) Beilstein : Handbuch der Organischen Chemie, Vol. I, page 108.

Le produit est presque insoluble dans l'éther de pétrole, soluble au contraire dans le chloroforme, l'éther, l'alcool à 95°, l'acétone, l'éther acétique et le benzène.

Nous venons d'étudier le premier groupement, *les corps insaponifiables*, obtenus par une saponification de la matière grasse.

Avant de passer à l'examen des autres composants du corps gras, les acides gras, la glycérine etc., nous nous attarderons encore quelques moments sur la saponification, au point de vue d'un isolement des substances insaponifiables : phytostérines, cholestérines, carbures, matières colorantes, etc.

Il est en vérité regrettable de voir les lacunes que présentent la plupart des méthodes parues sur ce sujet dans la littérature scientifique.

On indique par exemple tout simplement : on saponifie, on épuise par tel et tel véhicule, on obtient, etc.; mais en réalité, cette opération est extrêmement délicate à exécuter, parce qu'il se forme très souvent une émulsion en épuisant par l'un ou l'autre solvant.

Les résultats de nos expériences sur ce point sont essentiellement les suivants :

1° La saponification doit être complète.

2° L'épuisement avec l'éther de pétrole forme facilement une émulsion (c'est notre cas).

3° L'épuisement avec l'éther s'effectue sans difficultés particulières, *si on prend garde aux proportions de l'alcool, de l'eau et de l'éther.*

Le savon.

Acides gras non volatils.

Après l'épuisement à l'éther, la solution du savon (page 33) est soumise au traitement suivant :

Le savon solide, c. à d. les sels potassiques des acides gras non volatils, sont séparés en précipitant par le chlorure de sodium. Il se forme une masse molle, surnageante, d'une coloration jaune-brun, qui est isolée par filtration.

(*Nota* : Le filtrat contenant les sels potassiques des acides gras volatils, la glycérine et un excès de NaCl, est mis de côté pour un traitement ultérieur (page 39.)

Le savon est repris par de l'eau distillée, et les acides sont mis en liberté par addition d'acide sulfurique dilué en excès.

Par filtration suivie d'un lavage sur le filtre avec de l'eau distillée, nous avons obtenu une matière homogène colorée en jaune.

Pour éliminer les dernières traces d'acide sulfurique, le masse est dissoute dans l'éther, puis traitée dans une ampoule à décantation avec de l'eau distillée (jusqu'à ce que les eaux de lavage ne donnent plus de précipité avec $BaCl^2$).

Enfin l'éther est éliminé par distillation au B. M.

Le résidu, qui a l'aspect d'une masse liquide, jaune rougeâtre, est abandonné au repos pendant quelque temps.

Malheureusement, à la suite de diverses circonstances, nous n'avons pu reprendre le travail commencé sur les acides libres qu'après un intervalle assez long.

Malgré les mesures de précaution prises pour les conserver, nous avons à notre retour retrouvé une masse fortement rancie et plus foncée, entremêlée de cristaux blancs.

Le mélange des acides gras soumis à l'analyse a fourni les résultats suivants :

Point de fusion $+15^o$;

Point de congélation $+16^o$.

Indice de réfractomètre à 25^o : 82.00, avec un bord de dispersion bleu.

Indice d'iode : en moyenne 70.1.

Les réactions colorées des phytostérines sont nettement positives.

Le produit est soluble dans l'alcool et dans l'éther, moins soluble dans le chloroforme et dans l'éther de pétrole.

A la suite de la formation des cristaux blancs dans le mélange, nous avons recherché la présence d'acides palmitique et stéarique.

Comme une séparation mécanique (filtration, etc.) était impossible, nous avons suivi la méthode indiquée par M. David[1])

[1]) M. David : C. R. Ar. des Sciences C L I, p. 756 (1910).

Cette méthode est basée sur le principe suivant : Les sels ammoniacaux des acides gras concrets sont absolument insolubles, à la température de 13° à 14°, dans un grand excès d'ammoniaque liquide, tandis que les sels ammoniacaux des acides liquides y sont entièrement solubles.

En suivant cette méthode, que nous avons appliquée à 2 grammes de matière à essayer, on obtient une masse concrète, tout à fait blanche, pesant 28 mg. ce qui correspond à 1 gr. 4 d'acides concrets pour 100 gr. d'acides gras totaux.

Le produit est recristallisé dans l'alcool à 95°. Examiné au microscope, l'aspect est tantôt celui d'aiguilles réunies en petits globules (acide palmitique), tantôt celui de feuilles nacrées (acide stéarique). Le point de fusion est de 52°.

Le corps est soluble dans l'alcool à 95° et dans l'éther ; moins soluble dans l'éther de pétrole.

Les acides gras liquides sont isolés par traitement de la solution ammoniacale avec HCl, suivi d'un épuisement à l'éther. On obtient un liquide brun foncé d'une odeur très rance.

Celui-ci se prend en masse par refroidissement, mais fond de nouveau vers 16°. Parmi les acides gras liquides non saturés, nous n'avons pu identifier que l'acide oléique (réaction d'élaidine, etc.).[1])

Acides gras volatils.

Nous avons vu, page 29, que la détermination des indices de Reichert-Meissl et de Polenske, a indiqué la présence de petites quantités d'acides gras volatils, les uns solubles dans l'eau (R. M.), les autres peu solubles (P.).

Afin de faciliter la compréhension de cette partie assez compliquée, nous donnons ci-dessous un tableau contenant la plupart des acides gras entraînables à la vapeur d'eau, avec leurs caractères principaux.

[1]) Dr. Rosenthaler : Nachweis organischer Verbindungen (1914), page 305.

FORMULE GÉNÉRALE : $C^nH^{2n}O^2$

NOM	FORMULE	Solubilité	POINT de fusion	Point de Fusion d. éthers éthyliques
Acide formique	H CO OH	Les sels potassiques solubles dans l'eau — Solubles dans l'eau	100°.8	74°.1
Acide acétique	CH^3CO OH		117°.9 / 118°.1	88°.1
Acide propionique	C^2H^5CO OH		140°.7	102°.1
Acide butyrique-N.	$CH^3(CH^2)^2COOH$		162°.3 / 163°.5	116°.1
Acide butyrique Iso.	$(CH^3)^2CH$ COOH		154° / 155°.5	
Acide valérique-N.	$CH^3(CH^2)^3COOH$	Peu solubles dans l'eau	185°.5	130°.1
Acide valérique Iso.	$(CH^3)^2CH$ CH^2COOH		176°.7	
Acide caproïque-N.	$CH^3(CH^2)^4COOH$		205°	144°.2
Acide caproïque Iso.	$(CH^3)CH^2(CH^2)^2COOH$		207°.7	
Acide caprylique-N	$CH^3(CH^2)^6COOH$		236°.5	172°.2
Acide pélargonique	$CH^3(CH^2)^6COOH$	Insolubles dans l'eau	253°.5	187°.2
Acide caprique-N.	$CH^3(CH^2)^8COOH$		269°	200°.2
Acide laurinique	$CH^3(CH^2)^{10}COOH$		225° (100mm)	

L'élimination de ces acides a été l'objet d'un travail minitieux. Il existe bien des méthodes de séparation, de distillation fractionnée, ou de précipitation et qui sont facilement réalisables quand il s'agit d'un petit nombre d'acides et que la matière à essayer est en quantité notable. Mais si, par contre, on a affaire, et c'était notre cas, à des quantités d'acides infiniment petites, l'opération est extrêmement difficile. La méthode que nous avons choisie [1]), bien qu'elle ne soit pas elle-même exempte de critiques, nous a permis pourtant d'obtenir quelques résultats positifs.

Le liquide obtenu par la saponification (page 36), après avoir éliminé les corps insaponifiables et les acides gras non volatils, contient des sels potassiques, des acides gras volatils, de la glycérine et encore une certaine quantité de chlorure de sodium.

[1]) Dr. L. Rosenthaler : Grundzüge der chemischen Pflanzenuntersuchung (1904), page 55.

Selon les indications de Rosenthaler, le liquide est additionné d'acide sulfurique jusqu'à réaction acide (en présence de papier au rouge congo), puis on le soumet à la distillation. Le distillat était fortement acide, non seulement au début de l'opération, mais encore après avoir distillé pendant 4 heures environ. Ce fait nous a étonné ; mais après avoir examiné encore une fois les indications données par l'auteur, nous sommes arrivé à l'explication suivante :

En solution se trouvaient, avant la distillation, outre les corps organiques, un mélange d'une solution de chlorure de sodium et d'acide sulfurique.

Si on range ces corps d'après la loi d'action de masse, on a le rapport :

$$\frac{SO^4Na^2 \,.\, HCl}{NaCl \,.\, SO^4H^2} = K$$

Par conséquent, ce qui passe à la distillation, ce n'est pas les seuls acides gras, mais aussi l'acide chlorhydrique. Selon la loi d'équilibre, envisagée d'après la formule ci-dessus, la formation de HCl continue jusqu'à ce que la dernière molécule de chlorure de sodium soit décomposée.

Le filtrat obtenu était par ce fait fortement dilué. Il ne donne pas les réactions de l'acide acétique, tandis qu'une prise d'essai additionnée de quelques gouttes d'une solution de nitrate d'argent produit un précipité blanc, noircissant faiblement par chauffage. Pour des recherches ultérieures, les différentes circonstances nous ont poussé au choix de la marche suivante : Le liquide est partagé en deux portions ; l'une, *A*, assez petite, l'autre,*B*, plus grande.

A la solution A, on ajoute quelques centimètres cubes d'alcool éthylique, puis une petite quantité d'acide sulfurique concentré. On porte à l'ébullition au réfrigérant à reflux pendant une heure ; ensuite, la liqueur est abandonnée au repos pendant quelque temps. Enfin la solution est soumise à une distillation fractionnée :

A 79° il passe une petite quantité d'alcool, qui n'a pas réagi ; puis la température monte très vite jusqu'à 91°. A partir de ce point, on a obtenu un liquide d'un odeur très agréable de fruits frais (ananas), tant que le thermomètre monte lentement et régulièrement jusqu'à 121°.

La présence d'acide butyrique est alors prouvée par la formation de butyrate d'éthyle caractéristique, tandis que la méthode ne donnait aucun indice de la présence des autres acides gras volatils (comparer le tableau, page 39).

La solution B est neutralisée au moyen d'eau de baryte (en présence de papier de tournesol), puis évaporée à sec au B. M. On obtient un résidu, 1gramme environ, d'un blanc-jaunâtre, probablement composé de sels de baryum des acides gras volatils et d'une petite quantité de chlorure de baryum.

Afin de pouvoir identifier ultérieurement les différents corps qui se trouvent dans le mélange, nous nous sommes servi des indications données par Dr. K. Habersland [1]) et Dr. E. Luck [2]), au point de vue de la solubilité des sels de baryum des acides gras volatils dans l'alcool absolu.

D'après Luck, si on pose la solubilité de l'acétate de baryum = 1, on a :

Formiate de baryum = 0,2
Propionate de » = 9,0
Butyrate de » = 41,0

tandis que Habersland a trouvé :

Formiate de Baryum = 0,1632
Propioniate de » = 2,0798
Butyrate de » = 3,2608

Ce dernier termine en outre sa publication en concluant qu'une séparation de ces sels, basée sur la solubilité différente dans l'alcool absolu est condamnable, surtout en ce qui concerne les deux premiers (l'acétate et le formiate de Baryum).

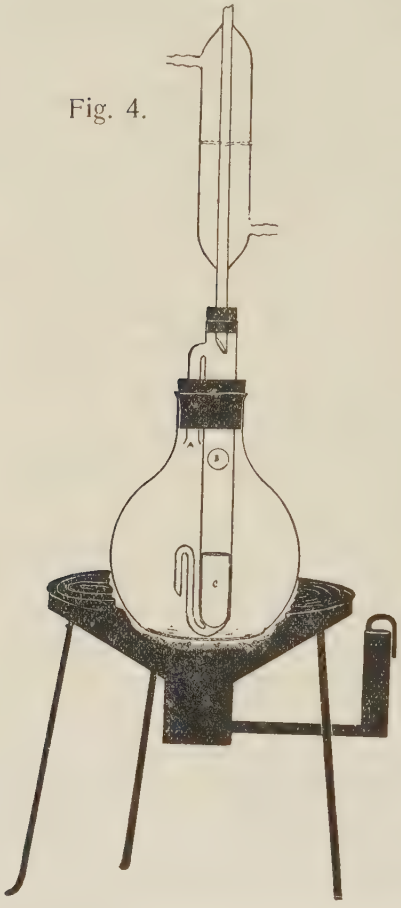
Dans notre cas, alors que la présence de l'acétate et du formiate est peu probable, nous avons quand même essayé d'obtenir un résultat favorable au moyen d'un épuisement de la matière en essai avec l'alcool absolu ; or nous avons constaté qu'on peut très bien arriver à distinguer ainsi les sels organiques de Baryum.

L'épuisement est fait dans un appareil à extraction continue spécialement construit par nous-même.

[1]) Fresenius : Zeitschrift f. analyt. Chemie, 38. 1899, page 217.
[2]) Fresenius : Zeitschrift f. analyt. Chemie, 10. 1899, page 184.

Il se compose (fig. 4) d'un ballon à large col, dans lequel longe un tube de verre muni à sa partie inférieure d'un petit siphon et relié à un refrigérant à reflux.

Fig. 4.



On place dans le tube la cartouche *c* de papier contenant le corps à épuiser. Par chauffage au B. M., les vapeurs du solvant passent par le tube *A* (ou plus simplement par un trou *B)* ; elles se condensent dans le réfrigérant et tombent continuellement dans la cartouche *c*. De cette façon, la substance à épuiser est plongée dans la vapeur même du dissolvant, ce qui permet une extraction continue à chaud. L'appareil qui fonctionne parfaitement est facile à faire .

A titre d'essai, nous avons fait un épuisement préliminaire, c. à d., maintenu l'extraction une quinzaine de minutes, seulement avec une petite quantité d'alcool absolu.

Cet alcool transvasé dans une petite capsule en verre, puis évaporé au B. M. a abandonné un léger résidu blanc-jaunâtre. L'eau le dissout facilement, mais en ajoutant quelques gouttes d'acide sulfurique, on remarque à la surface du liquide, l'apparition d'un corps léger, insoluble, en même temps que l'on perçoit une odeur faible de beurre ranci. A cause des quantités trop petites de matière en essai, nous n'avons pas pu faire d'analyse plus complète ; mais on peut déjà conclure qu'il s'agit ici d'acides gras peu solubles dans l'eau (comparer l'indice de Polenske).

Première Extraction.

Après cet essai, on a continué l'épuisement avec une nouvelle quantité d'alcool absolu, et cette fois pendant deux heures environ. Au bout de ce temps, l'alcool était fortement trouble. Après refroidissement, il se dépose un corps blanc floconneux en quantité assez grande.

L'alcool est évaporé au B. M. et la substance restant, soumise à l'analyse, a fourni les résultats suivants :

La solubilité dans l'eau est complète même après addition d'acide sulfurique.

Par addition d'acide sulfurique et d'alcool éthylique, une solution aqueuse du corps donne l'odeur de butyrate d'éthyle, caractéristique.

Par recristallisation dans l'eau distillée, on obtient un produit blanc cristallin qui, examiné au microscope, apparait sous forme de cristaux de Butyrate de baryum, en tablettes, ou aciculaires.

Avec la quantité restante de la substance bien séchée, on a fait le dosage du baryum.

Analyse *a* :

0, gr. 0209 donne 0, gr. 0161 SO^4Ba (= 45.31% Ba)

Calculé théoriquement pour l'acide butyrique :

0, gr. 0209 donne 0, gr. 0156 SO^4Ba (= 44.05% Ba)

Calculé théoriquement pour l'acide propionique :

0, gr. 0209 donne 0, gr. 0172 SO^4Ba (= 48,41% Ba)

Analyse *b* :

0, gr. 0036 donne 0, gr. 00277 SO^4Ba (= 45,28% Ba)

Calculé pour l'acide butyrique :

0, gr. 0036 donne 0, gr. 0027 SO^4Ba (= 44,05% Ba)

Calculé pour l'acide propionique :

0, gr. 0036 donne 0, gr. 00296 SO^4Ba (= 48,41% Ba)

Deuxième Extraction.

L'épuisement de la substance primitive est continué avec une nouvelle quantité d'alcool absolu (2 heures environ).

Nous n'avons obtenu que 0, gr. 016 de substance. Elle présente au microscope un aspect cristallin très net, affectant des formes de losange (propionate de Baryum).

Le dosage du baryum donne les résultats suivants :

0, gr. 0158 donne 0, gr. 0131 SO^4Ba (= 48,415%)

Calculé pour l'acide propionique :

0, gr. 0158 donne 0, gr. 013 SO^4Ba (= 48,41%)

Calculé pour l'acide butyrique :

0, gr. 0158 donne 0, gr. 0118 SO^4Ba (= 44,05%)

Par conséquent, à la suite de ces deux épuisements, nous avons obtenu une séparation nette de l'acide butyrique et de l'acide propionique.

Une troisième extraction d'une durée également de deux heures environ, a été d'un rendement si faible, que nous n'avons pu soumettre le produit à l'analyse.

Les résultats limités, mais probants, que nous avons obtenus par cette méthode, invitent à des recherches plus complètes sur la distinction possible des divers acides gras volatils, et c'est bien notre intention de poursuivre plus tard une telle étude.

La glycérine.

Dans la solution d'où furent isolés les différents acides gras (concrets, liquides et volatils), il ne reste à chercher que de la glycérine.

Le liquide (page 39) neutralisé avec de l'ammoniaque, est évaporé au B. M. Il laisse un résidu formé de glycérine, de sulfate de potassium et de chlorure de sodium. Le produit est traité avec un mélange d'alcool à 95° et d'éther (3—1). On filtre et l'alcool-éther est chassé par chauffage au B. M. De cette manière, nous sommes arrivé à obtenir un liquide d'une consistance sirupeuse. Pour identifier la glycérine, le sirop est chauffé avec 5 gr. de bisulfate de potassium, dans un tube abducteur dirigeant les vapeurs dégagées à la surface de 2 cc. de rosaniline bisulfitée. Il se produit une belle coloration rouge, qui vire au bleu franc, quand elle est maintenue une demi-heure au B. M. Cette réaction est carctéristique de la glycérine.

---

§ 2. Épuisements par l'éther éthylique et le chloroforme.

Pour éliminer la dernière trace du dissolvant, les fruits, précédemment épuisés par l'éther de pétrole, sont laissés à l'air pendant quelque temps.

Lorsque ce solvant est entièrement évaporé, la matière à essayer est placée dans l'appareil à extraction continu (indiqué page 19), et épuisée successivement à l'éther éthylique et au chloroforme.

La durée de chaque épuisement (que l'on peut considérer comme terminé, lorsque le liquide s'écoule incolore) est de quarante heures environ.

Les liquides obtenus sont d'une coloration brun noir.

Nous avons indiqué auparavant (page 14, extraction préliminaire) que les liquides et les résidus obtenus par l'extraction, soit à l'éther soit au chloroforme, avaient un aspect semblable. Nos recherches ultérieures prouvent aussi qu'il s'agit d'une seule et même substance, probablement une résine, qui ne contient guère de corps d'une grande importance. Cependant, nous avons exécuté ces épuisements avec soin, pour « préparer » la substance au traitement suivant, le plus important de nos recherches : l'extraction à l'alcool à 95° (détermination de la matière sucrée).

En concentrant les liqueurs obtenues par les derniers épuisements, on n'obtient ni précipité, ni cristaux, et la recherche des alcaloïdes et glucosides fut négative.

Si, par contre, on abandonne au repos pendant quelques semaines ces liquides concentrés, il se dépose, en partie sur le fond, en partie sur la paroi du matras, une petite quantité de cristaux blanc-jaunâtre. Ils sont facilement séparés par filtration et lavés sur le filtre avec un peu d'alcool éthéré.

L'aspect microscopique (tantôt des aiguilles simples, tantôt des aiguilles réunies en faisceaux ou bien des arborescences en croix) fait soupçonner que nous sommes de nouveau arrivé à l'alcool phytostérique.

La solubilité du corps, les réactions phytostériques positives, le point de fusion (250°) etc., ont confirmé d'ailleurs cette supposition .

Ensuite les solutions concentrées sont évaporées à sec, par distillation au B. M., sous pression réduite. Les dernières quantités des dissolvants qui passaient avaient une réaction acide très faible. On obtient ainsi des résidus friables, noirs, d'odeur aromatique, ayant l'aspect de cokes.

Par calcination dans une capsule en porcelaine, il se forme des vapeurs piquantes et désagréables. Le produit est facilement soluble dans le chloroforme, l'acétone et le benzène, donnant une belle coloration rouge ; moins soluble dans l'éther ordinaire, et partiellement soluble dans l'alcool à 95°.

Avec l'eau ce corps donne une solution, un peu acide, d'un beau jaune-vert.

Le liquide aqueux dépose par addition d'acétate de plomb un précipité blanc, volumineux, qui est obtenu également en ajoutant de l'azotate d'argent. Ce dernier précipité, en milieu ammoniacal, noircit par chauffage.

La liqueur cupro-alcaline est faiblement réduite, tandis qu'une solution de permanganate de soude se décolore facilement et complètement.

Cependant, nous n'avons pu isoler aucun acide, ni aucun corps organique dignes d'être pris en considération, bien que l'extrait aqueux des résidus fût traité soit par la méthode du plomb, soit par épuisement à l'éther éthylique.

---

§ 3. Épuisement par l'alcool a 95°.

Les fruits précédemment épuisés par l'éther de pétrole, l'éther éthylique et le chloroforme, sont laissés à l'air pendant quelques jours.

Lorsque le dernier dissolvant est entièrement évaporé, on partage la matière en essai en deux portions, que l'on place dans deux grands ballons (de 500 cc.) avec 300 cc. environ d'alcool à 95°. On adapte aux ballons des réfrigérants à reflux, et les liquides sont maintenus à l'ébullition au B. M. pendant 5 heures. Au bout de ce temps, la liqueur alcoolique est filtrée d'abord grossièrement, à travers une toile à percolation.

Pour obtenir la totalité du liquide restant dans les fruits, on presse ceux-ci fortement à l'aide d'une petite presse. Puis les liquides alcooliques réunis et encore chauds sont filtrés sur filtre à plis.

On obtient ainsi un liquide rouge fortement acide. Il est concentré un peu au B. M. sous pression réduite. Ce traitement avec les mêmes fruits est répété encore 4 fois, en employant chaque fois de nouvelles quantités d'alcool, Les extraits obtenus sont réunis, et abandonnés au repos dans un endroit froid. Après quelque temps, il s'est déposé sur le fond du matras une poudre brune, qui est séparée par filtration, puis lavée sur le filtre avec une assez grande quantité d'alcool. Ce produit est partiellement soluble dans l'eau ; mais par contre, très peu soluble dans l'alcool à 95°.

Il ne donne ni les réactions des alcaloïdes et glucosides, ni celles des tannins.

Par calcination sur une lame de platine il laisse un petit résidu blanc-jaunâtre en même temps que la flamme du bec Bunsen se colore en jaune-violet.

L'extrait alcoolique est concentré (jusqu'à 800 cc. environ) par distillation au B. M. sous pression réduite.

Afin de faciliter la compréhension de ce chapitre, nous indiquons ci-dessous la répartition de l'extrait alcoolique pour l'exécution des différentes analyses :

I. Analyse préliminaire (préparation de la matière en essai) ; 100 cc.

II. Isolement des acides organiques et examen de la solution sucrée : 400 cc.

III Recherche des autres corps, accompagnant l'extrait alcoolique : 300 cc.

I. Les premiers 100 cc. du liquide concentré sont additionnés d'éther éthylique en excès. Il se forme immédiatement un précipité blanc-jaunâtre, se déposant après quelques instants, en partie sur la paroi, en partie sur le fond du ballon.

Le dépôt se collant énergiquement au matras, est facilement isolé par une décantation simple du liquide éthero-alcoolique.

Il se présente ainsi à l'analyse :

a) un dépôt gommeux,

b) un liquide éthero-alcoolique.

Le premier produit est lavé avec quelques centimètres cubes d'éther alcoolique, puis dissous dans une quantité nécessaire d'eau distillée. On obtient une solution un peu acide, d'une coloration jaune-clair.

Elle ne donne ni réaction des alcaloïdes, ni changement de couleur par addition de perchlorure de fer. D'autre part, la liqueur cupro-alcaline est facilement réduite, et en ajoutant une solution d'acétate de plomb, il se forme un précipité blanc.

Le liquide éthero-alcoolique est évaporé à sec par distillation au B. M. à l'aide du vide.

Le résidu, une masse brun-foncé, est repris à chaud par l'eau distillée. Après avoir traité le liquide par agitation avec un peu de kaolin, on filtre, et le filtrat limpide, coloré en brun est soumis à l'analyse suivante :

Recherche des alcaloïdes et glucosides : résultat négatif.

Le perchlorure de fer donne une coloration verte très nette ; l'eau de baryte, une coloration vert-bleu. La solution est fortement acide, et par addition d'acétate de plomb on obtient un précipité blanc volumineux.

La liqueur cupro-alcaline est réduite.

Ensuite le dépôt gommeux, ainsi que le résidu obtenu par évaporation du liquide éthero-alcoolique, sont traités selon la méthode indiquée par Bourquelot [1]), pour la recherche des glucosides et polysaccharides. Dans les deux cas, la quantité du sucre n'a pas augmenté.

En résumé, par ces opérations on n'obtient pas une séparation convenable des corps se trouvant dans l'extrait primitif. Les renseignements que l'on peut en tirer, par contre, sont essentiellement les suivants :

Le dépôt produit par l'addition de l'éther renferme un ou plusieurs sucres réducteurs, de la gomme, une minime quantité d'acides etc.

Dans la solution éthero-alcoolique, nous trouvons une grande partie d'acides organiques encore en solution, puis du tannin, du sucre, etc.

[1]) loc. cit., page 14.

Enfin, l'analyse pour la détermination des glucosides et polysaccharides (d'après Bourquelot) a démontré, que, *la matière sucrée obtenue par l'épuisement àl'alcool est constituée par tune ou plusieurs sortes de sucres réducteurs.*

Nous avons désormais une idée des corps qu'il nous faut étudier, et sur cette base nous avons choisi la méthode suivante, pour leur identification :

L'extrait obtenu par l'épuisement à l'alcool est repris par d'eau distillée.

La solution aqueuse est précipitée en partie avec l'acétate neutre de plomb, en partie avec le sous-acétate de plomb.

Par filtration il se présente à l'analyse :

A. Différents dépôts plombiques contenant :
des acides organiques,
une matière visqueuse,
une matière colorante,
du tannin,
des gommes, etc.,

B. Un liquide sucré.

Dans la suite nous étudierons successivement et dans l'ordre de leur obtention les corps que nous n'avons pu isoler par cette méthode.

II. Les 400 grammes d'extrait alcoolique sont évaporés à sec au B. M.

Le résidu est repris avec de l'eau distillée en chauffant légèrement, ensuite le liquide est traité avec un peu de kaolin et filtré .

Le filtrat limpide, coloré en brun foncé, sert à l'analyse suivante :

1° Recherche des Acides organiques.

La solution (500 grammes environ) est neutralisée avec de la lessive de soude pure (en présence du tournesol), puis additionnée d'une solution neutre d'acétate de plomb à 20%, tant qu'il se forme un précipité. Enfin on ajoute au liquide un égal volume d'alcool à 95° et le mélange est abandonné

au repos pendant 24 heures. Au bout de ce temps, le dépôt blanc jaunâtre est séparé par filtration (le filtrat, voir page 54).

Le précipité est lavé par décantation avec un mélange d'alcool et d'eau, jusqu'à ce que les eaux de lavage ne donnent ni réaction du sucre, ni précipité en ajoutant de l'acide sulfurique.

Le précipité ainsi lavé est additionné d'eau et porté à l'ébullition ; le liquide chaud est soumis à l'action d'un vif courant d'hydrogène sulfuré, jusqu'à refroidissement complet.

Les acides sont ainsi mis en liberté ; on filtre : les acides passant dans le filtrat clair, tandis que le sulfure de plomb reste sur le filtre. La solution est évaporée au B. M. en chauffant doucement, jusqu'à 60 cc. On neutralise avec de la lessive, puis évapore jusqu'à 15 cc.

Le liquide concentré contenant les sels potassiques des différents acides, plus certaines impuretés (tannin, acide phosphorique, etc.) est alors traité d'après la méthode de JOERGENSEN [1]), basée sur le principe suivant :

Le tannin, et eventuellement l'acide phosphorique et l'acide sulfurique, sont éliminés en traitant le liquide avec de l'alcool à 95°.

L'acide tartrique est isolé sous forme de tartrate acide de potassium par addition d'acide acétique ; l'acide succinique est retiré de la solution par épuisement à l'éther en milieu acide ; enfin l'acide malique et l'acide citrique sont isolés et séparés sous forme de sels de baryum, grâce à leurs solubilités différentes dans l'alcool à 28°.

Le liquide concentré neutralisé et amené par évaporation à 15 cc. est donc additionné d'un volume double d'alcool et abandonné à lui-même pendant la nuit. Le lendemain on filtre, et le filtrat sert à la recherche de l'*acide tartrique* : il est additionné de 3 cc. d'acide acétique cristallisable, et le mélange ainsi obtenu est agité de temps à temps pendant une durée de 48 heures. Dans ces conditions l'acide tartrique, d'après l'auteur précipitera sous forme de cristaux blanc-jaunâtre (le tartrate acide de potassium).

[1]) Zeitschr. f. d. Unters. d. Nahrungs- u. Genussm., Vol. 13, page 241 (1907).

Par ce moyen nous avons nettement obtenu un précipité jaune, qui examiné au microscope apparait sous forme de petits cristaux arrondis, irréguliers, peu carctéristiques. Cependant, nous nous sommes assuré qu'il ne s'agit pas d'un tartrate.[1])

Le liquide filtré est ensuite chauffé au B. M. pour éliminer l'alcool et l'acide acétique. La solution aqueuse, additionnée de quelques centimètres cubes d'acide sulfurique dilué, est soumise à une extraction à l'éther éthylique, dans un entonnoir à robinet, pour rechercher l'*acide succinique.*

Lorsqu'on évapore à siccité la solution éthérée, on obtient un résidu brun, très acide, d'une odeur empyreumatique. En traitant ce produit avec de l'eau chaude, puis en filtrant et concentrant un peu le liquide, on obtient après refroidissement de nombreux cristaux jaunes, qui, examinés au microscope, apparaissent sous forme de petites colonnes. La solution aqueuse de ce corps, neutralisée par l'ammoniaque, donne par addition de perchlorure de fer un précipité brun vert.

Les cristaux chauffés à sec dans une petite capsule en porcelaine se volatilisent entièrement en donnant des vapeurs blanches extrêmement irritantes.

La réaction pyrrolique [2]) positive, caractérise ultérieurement la présence d'acide succinique.

Pour déterminer *l'acide citrique et l'acide malique*, la solution aqueuse épuisée par l'éther, 45 cc. environ, est neutralisée (en présence du tournesol) au moyen de la lessive de soude, puis additionnée de 10 cc. d'une solution de chlorure de baryum à 10%.

Il se forme immédiatement un précipité volumineux, qui, d'après l'auteur de la méthode, peut être composé de sels de baryum, d'acide phosphorique, d'acide sulfurique, d'acide tannique et dans certains cas aussi d'acide citrique. En examinant ce produit, nous avons remarqué qu'il s'agit ici, outre de petites

[1]) G. Denigès : Précis de Chimie analytique : Réactifs de l'acide tartrique :
a) Réactif de Mœhler,
b) Réactif de Tenton,
c) Formation du sel de chaux,
d) Réduction de la solution ammoniacale de l'azotate d'argent.

[2]) C. Neuberg : Zeitschr. f. physiol. Chemie, vol. 31, page 574, 1900.

quantités d'acide tannique, d'un mélange de citrate, et de malate de baryum, ce qui fait supposer des quantités notables de ces corps, puisque d'après JOERGENSE, des faibles quantités ne se précipiteraient pas, mais resteraient en solution.

Nous avons traité le dépôt avec une assez grande quantité d'eau froide, afin de les redissoudre. On filtre et on prend 72 cc. du filtrat auquel on ajoute assez d'alcool absolu pour obtenir 100 cc. de liquide (ce qui correspond à un titre alcoolique de 28°).

Le mélange est bien agité, puis abandonné au repos pendant quelques heures. Il se forme un précipité volumineux qui donne toujours les réactions des citrates et des malates. Aussi avons-nous de nouveau dissous le dépôt dans environ 70 cc. d'eau, puis ajouté de l'alcool absolu jusqu'à 100 cc. Ce traitement, répété une troisième fois, laisse finalement à l'analyse:

a) un précipité blanc volumineux,
b) des filtrats alcooliques.

A) La présence d'acide citrique dans le précipité, lavé sur le filtre avec quelques centimètres cubes d'alcool à 28°, est caractérisé au moyen des réactifs suivants :

a) Réactif de Denigès ($HgO + SO^4H^2$),
b) Formation de citrate de calcium,
c) Réactif de Merck.[1])

Les réactions de l'acide malique sont négatives.

B) Le filtrat alcoolique est évaporé au B. M. Par addition de son volume d'alcool à 95°, il se forme un précipité blanc volumineux, qui soumis à l'analyse donne avec les réactifs principaux de l'acide malique une réaction positive.

Nous avons choisi parmi les méthodes d'identification les suivantes :

a) La réaction de Dénigès (acétate de mercure).
b) Les caractères du sel de plomb.

[1]) Réactif coloré de l'acide citrique :
La matière à essayer est chauffée (90°—95°) pendant 8 minutes avec de l'acide sulfurique concentré. Le mélange dilué donne (en milieu alcalin) avec le nitroprussiate de sodium une coloration rouge rubis, qui par addition d'acide acétique vire au violet.

c) La réduction d'une solution de chlorure de palladium par chauffage en milieu alcalin.

d) La diazo-réaction de Rosenthaler.[1])

La méthode suivie (celle de Joergensen) a bien permis une séparation de ces divers acides, mais la technique est très compliquée, dès qu'on se trouve en présence de quantités assez grandes d'acide citrique et d'acide malique.

La méthode peut d'ailleurs être appliquée au dosage de ces acides.

* * *

Dans le même ordre de recherches nous pouvons indiquer une autre méthode signalée par E. Schmidt [2]) pour la séparation d'un certain nombre d'acides organiques, méthode que nous avons perfectionnée et qui est basée sur le principe suivant :

Une solution des acides libres est additionnée d'une certaine quantité d'acétate de calcium, puis d'eau de chaux en excès. On obtient un précipité blanc qui peut être composé d'oxalate et de tartrate de chaux, tandis que les sels de chaux des autres acides se trouvent en solution. Après filtration, le précipité est traité à chaud avec l'acide acétique, ce qui permet de distinguer l'oxalate du tartrate, puisque celui-ci est facilement soluble dans cet acide.

Le filtrat qui peut contenir les sels de chaux des acides succinique, malique et citrique, est porté à l'ébullition. Le citrate de chaux se précipite après quelque temps, et peut être isolé par filtration à chaud. Dans une partie du filtrat neutralisé et éventuellement concentré, l'acide succinique est isolé sous forme de succinate de fer [3]) et enfin dans une autre partie on peut obtenir l'acide malique par précipitation avec l'acétate de plomb.

Nous avons appliqué cette méthode au mélange d'acides, qui se précipitent lorsqu'on ajoute de l'acétate de plomb à une

[1]) L. Rosenthaler : Nachweis Organischer Verbindungen (1914), page 347. — Diazoréaction : un mélange d'acide sulfanilique et de nitrite de soude donne avec l'acide malique (en milieu alcalin) une coloration rouge-violet.

[2]) E. Schmidt : Ausführ. Lehrbuch d. pharm. Chemie (1910), vol. II, page 619.

[3]) Nous trouvons que l'épuisement à l'éther, en milieu acide, est plus favorable pour l'obtention de cet acide.

solution aqueuse de notre extrait alcoolique (page 47). Le précipité plombique était traité par l'hydrogène sulfuré dans les conditions indiquées plus haut.

Mais nous avons remarqué que la solution acide sucrée primitive, par suite de son séjour en un endroit assez chaud, était en voie de fermentation. Cela peut expliquer la divergence des résultats obtenus avec la méthode de SCHMIDT et ceux donnés par la méthode de JOERGENSEN. Ainsi nous avons trouvé des quantités plus grandes d'acide succinique, tandis que l'acide malique et principalement l'acide citrique se trouvent en quantités moindres.

2°. EXAMEN DU LIQUIDE SUCRÉ.

Le filtrat sucré obtenu par filtration du précipité plombique, (page 46), est porté à l'ébullition, puis soumis à l'action d'un courant d'hydrogène sulfuré. On filtre pour séparer le sulfure de plomb, et le filtrat, jaune clair, additionné d'un peu de carbonate de calcium, est évaporé à sec au B. M., sous pression réduite.

On obtient un sirop épais d'une coloration brun foncé. Afin d'obtenir le sucre aussi pur que possible, (en vue d'exécuter les différentes réactions d'identité), nous avons employé la méthode suivante, basée sur les expériences et les indications données par divers auteurs [1]) :

Le sirop est d'abord agité avec trois fois son volume d'alcool à 95°, additionné d'un tiers d'éther éthylique. Puis on chauffe le mélange au B.-M. (réfrigérant à reflux) pendant quelques heures. On précipite ainsi la majeure partie de la gomme, (qui accompagne très souvent le sucre), tandis que l'éther alcoolique dissout une grande partie du sucre. Cette opération est répétée trois fois de suite. Les liquides éthéro-alcooliques réunis sont évaporés par distillation au B.-M. jusqu'à consistance sirupeuse. Pour parfaire la purification de cette liqueur sucrée et qui est colorée en jaune brun, on l'évapore à siccité ;

[1]) E. ABDERHALDEN, vol. II, page 37.
Dr. H. WESTER : Anleitung zur Darstellung phytochemischer Uebungspräparate (1913), page 69.
G. BERTRAND et THOMAS, page 107.

Le résidu est repris par de l'eau additionnée de quelques centimètres cubes d'acide acétique (1). La solution obtenue est agitée avec 5 grammes environ de noir animal, pendant 2 heures. On filtre, et le charbon est lavé plusieurs fois avec de l'eau chaude. Ensuite, le filtrat est évaporé au B.-M., sous *pression réduite* (il est préférable d'achever l'opération à l'aide du vide à une température aussi basse que possible, car le sucre devient jaunâtre même par un chauffage en-dessous de 100°.)

Nous avions vu (page 12) dans les essais préliminaires, que la matière sucrée était réductrice. Nous avons donc soumis le produit obtenu à l'analyse suivante :

A. Réactions générales des sucres.

1°. Lorsqu'on fait bouillir une solution aqueuse du sirop obtenu avec une solution de potasse, le liquide se colore en jaune foncé (caramélisation).

2°. La solution sucrée réduit facilement le réactif cuproalcalin.

3°. Traitée par l'acide sulfurique concentré, elle se colore rapidement en brun foncé.

4°. Chauffée avec la phloroglucine et l'acide chlorhydrique concentré elle donne une coloration rouge (2).

5°. L'action de la phénylphydrazine sur la matière à essayer3) est examinée de la façon suivante : Quelques milligrammes du sucre sont additionnés de 2 gouttes de phénylhydrazine et de 4 gouttes d'acide acétique cristallisable dans un tube à essai. On maintient le mélange à l'ébullition pendant 2 minutes, puis on ajoute quelques gouttes d'eau (jusqu'à ce que le liquide soit faiblement trouble). Ensuite, on verse quelques gouttes de la solution sur une lame porte-objet.

Par examen microscopique, nous avons pu constater la présence de plusieures osazones toutes diffèrentes ; aussi une caractérisation ultérieure fut-elle très difficile à obtenir.

6°. Pour distinguer les sucres aldéhydiques des sucres cétoniques, nous avons fait une série d'analyses, dont voici les principales :

1) L. Michaleis et P. Rona : Zeitschrift, vol. 16, page 489 (1909).

2) Bertrand et Thomas, page 64.

3) De Graaf : Pharm. Weckbl. 42. 1905. 364 : Préparation des osazones pour un examen microscopique.

a) La solution aqueuse du sirop, étendue de son volume d'acide chlorhydrique concentré, donne avec la résorcine une coloration rouge très nette, ce qui indique la présence d'un sucre cétonique (Réaction de Séliwanoff).

b) 2 à 3 cgr. du sucre à examiner en solution concentrée sont additionnés de 10c.c. d'eau de brome saturée à la température ordinaire et fraichement préparée avec du brome pur.

Le tout est placé dans un tube à essai, puis chauffé au B.-M. pendant 10 minutes à la température de 60° à 70°. On porte ensuite rapidement à l'ébullition le contenu du tube pour chasser le brome restant. La liqueur parfaitement incolore est additionnée de 10 cc. du réactif obtenu en ajoutant à 100 cc. d'eau distillée, 4 gouttes de perchlorure de fer à 45° B. et 2 gouttes d'acide chlorhydrique à 22° B. :

Il se forme une coloration jaune brun qui confirme la présence du sucre aldéhydique (Réaction de Berg.). (1).

c) 10 gouttes d'une solution sucrée (pas trop concentrée) sont traitées dans un tube à essai avec un mélange de 5 cc. d'acide acétique cristallisable et 5 cc. d'une solution alcoolique d'orcine à 5%. On porte à l'ébullition, et on ajoute goutte à goutte de l'acide sulfurique concentré, jusqu'à coloration distincte. Le liquide se colore en rouge brun. D'après l'auteur (2), les différents sucres aldéhydiques donnent les colorations suivantes :

L'arabinose : rouge-violet
Le xylose : violet-bleu.
Le glycose : brun-rouge.

d) Le sirop traité par ébullition avec un mélange de Naphtol-Résorciné, d'acide chlorhydrique et d'eau, d'après les indications de Rosive et Tollens (3) donne un précipité noir, facilement soluble dans l'alcool à 95° qui prend une coloration violet-sale, avec fluorescence verte très forte.

7°. Enfin nous avons essayé le pouvoir de cristallisation

1) Bull. Soc. Chim. (3) 31. 1904, page 1216.

2) Neumann : Biochem. Zeitschr. (1906) I, page 383.

3) B. Tollens et F. Rorive : Ber. d. Deutsche Chem. Ges. 41, page 1783 (1908).
Les sucres aldéhydiques traités par le naphtol-α-résorcine et d'acide chlorhydrique, donnent un précipité foncé, qui se dissout dans l'alcool à 95° avec des colorations mal définies, d'une florescence verte.

du sirop, par amorçage. Dans ce but on place sur différentes lames de verre une goutte de la solution sucrée concentrée, puis on porte sur chaque goutte, à l'aide d'une épingle, une parcelle de différents monosaccharides et on abandonne au repos à la température du laboratoire.

De temps en temps on regarde au microscope les gouttes ainsi ensemencées. Nous avons noté après plusieures semaines que les cristaux de fructose restent à peu près intacts, tandis que le nombre de cristaux de galactose et de glucose est faiblement augmenté.

8° Le pouvoir rotatoire (tube de 100 mm.) calculé pour une solution de 10% du sucre était :

a) immédiatement après la préparation du liquide à essayer : $(\alpha)D = -3°,35$;

b) après 4 heures de repos : $(\alpha)D = -3°,97$;

c) après 24 heures de repos : $(\alpha)D = -4°,00$.

En somme, de ces réactions préliminaires, nous pouvons tirer la conclusion suivante : La matière sucrée réductrice en essai comprend plusieurs sucres, certains à fonction aldéhydique, et certains à fonction cétonique. Pour l'identification ultérieure, nous nous sommes adressé à des réactions plus spéciales.

Nous commençons par une *détermination des pentoses.*

A. Réactions furfuroliques.[1])

a) Dans une fiole de 200 cc. on place quelques grammes du sirop à essayer, préalablement dissous dans 50 cc. d'eau chaude. Puis on ajoute 15 cc. d'acide chlorhydrique concentré et une goutte d'huile (pour empêcher la formation de mousse) ; ensuite, on chauffe à l'ébullition, après avoir relié le col du ballon à un réfrigérant. Par distillation on obtient un liquide d'une odeur caractéristique de furfurol. Il donne par addition d'acétate d'aniline une coloration rouge vif (acétate furfurolique d'aniline).

b) Une autre réaction très nette pour l'identification des aldopentoses au moyen de la formation de l'acétate furfurolique d'aniline est indiquée par R. et O. Adler [2]).

[1]) « Bertrand et Thomas », page 66.

[2]) R. et C. Adler : Zeitschr. f. physiol. Chem. 45. (1905) 500.

On chauffe à l'ébullition dans un tube à essai un mélange d'acide acétique cristallisable additionné de son volume d'aniline. Si on ajoute quelques gouttes de la solution sucrée et d'acide chlorhydrique concentré, il se forme immédiatement une coloration rouge très vive, coloration que nous avons obtenue.

Ces recherches furfuroliques sont considérées comme les plus exactes pour l'identification des aldopentoses.

Si, par contre, on a affaire, comme dans notre cas, à un mélange de plusieurs monosaccharides, la formation par hydrolyse des aldéhydes du groupement furanique, s'effectue d'après les formules suivantes :

$C^5H^{10}O^5 - 3H^2O = C^5H^4O^2$
Pentoses — Furfurol

$C^6H^{12}O^5 - 3H^2O = C^6H^6O^2$
Méthyl pentoses — Méthyl-furfurol

$C^6H^{12}O^6 - 3H^2O = C^6H^6O^3$
Hexoses — Oxyméthyl-furfurol

Toutefois certains hexoses (glucose, galactose, etc.) en les chauffant avec un acide minéral concentré, donnent non seulement du furfurol oxyméthylique, mais aussi des petites quantités de furfurol ;[1]) en outre, certaines réactions des pentoses sont empêchées par la présence d'hexoses (par le fructose en particulier). Pour ces raisons, nous avons jugé bon d'éliminer les sucres fermentescibles en les dédoublant à l'aide de la levure de bière.

Dans ce but, nous avons traité une partie du sirop (15 gr. environ) avec quelques grammes de levure de bière, puis abandonné le tout dans une étuve à 28°—30°.

Au bout de 4 à 5 jours la fermentation est terminée. On filtre et le filtrat est évaporé à consistance sirupeuse. On obtient un produit acide, jaune brun, d'une odeur forte de malt, mais en quantité très faible. Il réduit facilement la solution cuproalcaline et la *réaction d'aniline furfurolique est nettement positive.*

[1]) « E. Abderhalden, » vol. II, page 100.

Nous avons fait également sur ce produit, quelques réactions colorées avec certains phénols (phloroglucine et orcine).

G. Bertrand [1]) indique que les hexoses en présence d'acide chlorhydrique et d'orcine donnent une coloration rouge orange, tandis que les pentoses produisent une coloration violet-bleu. Avec la phloroglucine et l'acide chlorhydrique, le mélange se colore en rouge dans tous les cas.

Sur les mêmes principes se base une série de réactions colorées des pentoses, plus ou moins sensibles. Nous avons essayé la sensibilité d'un certain nombre des réactifs indiqués, vis-à-vis des pentoses purs, et nous donnons ci-dessous le mode opératoire et les résultats obtenus en employant les meilleures techniques pour identifier le produit isolé par nous, après fermentation du sucre de *Haronga*.

1° Réaction d'Allen et Tollens [2]) :

Réactifs : 0 gr. 5 d'orcine
25 gr. d'eau
25 gr. d'acide chlorhydrique (densité 1,19).

Lorsqu'on chauffe doucement quelques centigrammes de la matière à essayer avec ce réactif, le liquide se colore en jaune brun, puis en rouge violet. Ensuite il se forme un précipité violet-foncé, facilement soluble dans l'alcool à 95°, qui se colore en bleu-violet.

2° Réaction de Pieraerts.[3])

Réactifs : Orcine, 1 gramme,
Alcool à 95°, 200 grammes,
Acide chlorhydrique concentré 5 cc.

En chauffant au B. M. pendant 30 minutes 5 cc. de la solution sucrée avec 3 gouttes du réactif, on obtient nettement les mêmes colorations qui furent observées dans la réaction d'Allen et Tollens, seulement la dissolution alcoolique du précipité obtenu est fortement colorée en vert.

3° Réaction de Neumann [4]) :

Il se produit nettement une coloration rouge-violet.

[1]) « G. Bertrand et P. Thomas », page 64.

[2]) Ann. Chemie (1890) 260, page 305.

[3]) Bull. de l'association des chimistes de sucrerie et distillerie, août 1908.

[4]) Neumann : loc. cit. Cette Thèse, page 56.

4° Réaction de Wheeler et Tollens [1]) :

Réactifs : Acide chlorhydrique concentré } Parties
Eau distillée } égales.
Phloroglucine q. s. pour saturer.

Si on chauffe à 95°—98° le sirop avec quelques centimètres cubes de ce réactif on obtient une coloration rouge, qui disparait après quelques minutes, en même temps que le liquide se trouble.

La formation des colorations successives, soit avec l'orcine, soit avec la phloroglucine, se produit assez vite en chauffant. Il importe cependant de remarquer que la matière colorante est très instable, et particulièrement sensible à l'action de la chaleur. Afin de conserver la couleur d'une phase de la réaction, nous avons eu l'occasion de confirmer la valeur de quelques indications données par E. Salkowsky [2]). En particulier, si on épuise la solution aqueuse immédiatement après l'apparition de la couleur, avec quelques centimètres cubes d'alcool amylique pur, la matière colorante passe facilement dans la couche alcoolique et y demeure inaltérée.

[1]) Wheeler et Tollens : Ann. Chem. 254 (1889) 329.
[2]) Zeitschrift f. physiol. Chem., vol. 27, page 508 (1899).

B. Identification des pentoses par l'action de la phenylhydrazine et des phenylhydrazines substituées.

1° *Examen microscopique des osazones d'après* De Graaff.[1])

L'aspect des osazones obtenues est tantôt celui de filaments très fins, courbés et enchevêtrés (Arabinosazone), tantôt celui, mais en toute petite quantité, de lamelles et aiguilles libres, ou groupées en étoiles (ressemblant un peu à l'osazone du galactose).

2° *Formation de certaines phenylhydrazones.*

Pour terminer nos recherches des pentoses dans le sirop non fermentescible, nous avons essayé d'obtenir quelques hydrazones caractéristiques.

Nous avons choisi parmi les hydrazines substituées la benzylphenyl et la diphénylhydrazine. Voici le mode opératoire :

Pour préparer la benzylphenyl-hydrazine, on ajoute à une solution alcoolique du sirop à essayer une quantité calculée d'hydrazine.[2])

On obtient après quelques jours une masse homogène brune entremêlée de nombreux cristaux jaune blanc. Ces derniers sont séparés mécaniquement, puis lavés sur un filtre avec quelques centimètres cubes d'alcool à 80°. Le produit obtenu apparait au microscope sous forme d'aiguilles blanches réunies de façon à former des amas globuleux.

Le point de fusion était 169°—171°.[3]) *(Arabinose-benzyl-phenyl-hydrazine*, 170°.)

Nous n'avons pas pu constater la présence d'autres hydrazones.

* * *

La formation de diphenylhydrazone s'est faite en employant 1 gr. 6 du sirop, additionné d'une solution alcoolique d'hydrazine (1 gr. 85 + alcool absolu).

[1]) De Graaf : loc. cit. (Cette Thèse, page 55).

[2]) Nous avons employé de l'alcool à 75°, une solution du sirop à 8%, et environ 1 gramme de la benzylphenylhydrazine.

[3]) Appareil de Müther et Tollens. — Ber. d. Deutsche chem. Ges. Année 37 (1904), page 314.

Il se forme après quelques jours une masse cristalline blanche. Cette méthode est à recommander pour l'identification de l'arabinose (arabinose = diphenylhydrazone, aiguilles blanches, point de fusion 218°). Malheureusement dans notre expérience, en essayant de purifier le produit obtenu par recristallisation dans l'alcool, les cristaux ont été perdus.

C. Recherches et isolement des différents hexoses.

Lorsqu'on a affaire à un mélange de plusieurs eepèces ds ces sucres, l'identification de chacun d'eux est très difficile, parce que leurs propriétés chimiques sont assez semblables.

Le galactose cependant occupe une place à part : par oxydation avec l'acide nitrique, il donne en effet de l'acide mucique, facile à constater par suite de son aspect cristallin caractéristique et de sa presque insolubilité dans l'eau. Nous avons commencé nos recherches des hexoses par une oxydation du sucre à essayer, en opérant comme suit [1]) :

On chauffe au bain-marie, dans une capsule de diamètre 5 cm 7, 5 grammes du sirop à examiner avec 60 cc. d'acide nitrique (25°), jusqu'à ce que la majeure partie de l'acide soit évaporé (il reste une hauteur de liquide d'environ 8 mm). La capsule est abandonnée au repos pendant la nuit. Le lendemain il s'est formé un nombre assez grand de cristaux blancs, apparaissant au microscope sous forme de petits prismes courts. Le produit est séparé par filtration, puis lavé sur le filtre avec quelques centimètres cubes d'eau distillée. Bien séché à une température de 110°; il fond vers 210°. Les cristaux sont complètement solubles dans l'ammoniaque.

Une solution ammoniacale évaporée à siccité donne un résidu, qui, par calcination, dégage des vapeurs pyrroliques (un copeau de bois plongé dans de l'acide chlorhydrique concentré, puis placé dans les vapeurs ci-dessus, se colore en rouge, par suite d'une formation de pyrolchlorhydrique).

En ce qui concerne les autres hexoses, c. à d. le mannose, le glucose et le fructose, il existe des méthodes pour leur séparation, mais elles sont difficiles à exécuter.

En utilisant soit la formation d'hydrazones et d'osazones soit d'autres moyens, nous avons établi une méthode systématique, exécutée sur le sirop de *Haronga*, et qui permet la détermination des différents hexoses avec la même prise d'essai. On opère de la façon suivante :

4 grammes de sirop, en solution aqueuse peu concentrée, sont traités avec un mélange de 2 grammes de phénylhydrazine

[1]) Tollens : Ann. chem. 232 (1886), page 186.

liquide et 1,4 gramme d'acide acétique à 75% dans une fiole d'environ 50 cc. On ajoute quelques gouttes d'alcool absolu pour obtenir une liqueur limpide. Après deux heures de repos à la température ordinaire (15°), il s'est formé un précipité jaune qui peut être la phenylhydrazone de la mannose, par suite de sa presque insolubilité dans le dissolvant employé.

Afin d'obtenir une précipitation complète, la fiole est abandonnée à elle-même pendant 24 heures à une température d'environ 10°. Puis on filtre et le précipité est lavé (sur le filtre) avec quelques centimètres cubes d'alcool à 75°. Le produit obtenu apparait au microscope sous forme de sphérocristaux caractéristiques de la mannose-hydrazone. Les cristaux étaient fusibles vers 196°.

Le filtrat obtenu par la séparation de la mannose-hydrazone est additionné de 3 grammes de methylphenylhydrazine et de quelques gouttes d'acide acétique concentré ; on ajoute assez d'alcool absolu pour obtenir un liquide limpide. Immédiatement il se forme un précipité jaune. Pour compléter la précipitation, la liqueur est laissée au repos pendant la nuit. Le lendemain on filtre et le dépôt est lavé avec quelques centimètres cubes d'alcool. Le produit obtenu apparait au microscope sous forme de cristaux en aiguilles blanc jaunâtre, réunie en gros amas arrondis. Ces aiguilles fondent vers 180° et se dissolvent facilement dans l'alcool méthylique. (*Galactose methylphenyl-hydrazone.*)

Pour la recherche du fructose et du glucose dans le filtrat, une partie du liquide est évaporé au B. M. jusqu'à consistance sirupeuse. Par refroidissement, le sirop se solidifie sous forme d'une masse cristalline. L'aspect microscopique de ces cristaux est tantôt celui de lamelles blanches et larges, tantôt celui d'aiguilles rouge jaune.[1])

L'autre partie est additionnée d'un excès de formol et d'un peu d'alcool à 95°, afin de régénérer les sucres à l'état pur.

[1]) Sur ce point on peut profiter de la méthode de NEUBERG (Ber. d. Deutsche Chem. Ges. 35 (1902), page 965) qui est basée sur le principe suivant : Le glucose chauffé au B.-M. avec la méthylphenylhydrazine, donne *une hydrazone* (cristaux en forme de tablettes blanches et longues) peu soluble dans l'alcool absolu.

Le fructose par contre, traité dans les mêmes conditions, donne une *osazone* (cristaux en forme d'aiguilles rouge jaune) plus facilement soluble dans l'alcool absolu.

On chauffe au B. M. au réfrigérant à reflux pendant 1 heure. Le liquide après refroidissement est épuisé avec de l'éther dans un entonnoir à séparation. La solution ainsi traitée est chauffée au B. M. pour chasser l'excès de formol (on ajoute de temps en temps quelques centimètres cubes d'eau pour maintenir une concentration convenable).

Enfin, on décolore la solution à l'aide de noir animal. Dans le liquide clair finalement obtenu, nous avons mis en évidence les deux espèces de sucre de la façon suivante :

A. Sucre cétonique (fructose).

1° La solution glucocolique de cuivre de PIERAERTS [1]) est réduite avant 24 heures.

2° La réaction de SÉLIWANOFF [2]) est nettement positive.

3° La solution à essayer additionnée de son volume d'acide chlorhydrique fumant et d'une petite quantité de Vanilline donne par chauffage au B. M. bouillant une coloration rose.[3])

B. Sucre aldéhylique (glucose).

1° La réaction de RORIVE et TOLLENS [4]) est positive.

2° Par oxydation du liquide sucré à l'aide du brome, on obtient une coloration jaune en ajoutant une goutte de la solution de perchlorure de fer diluée.[5])

3° Le reste de la solution à examiner est évaporée à sec. Le résidu, 1 gramme environ, est chauffé au B. M. avec 5 cc. d'acide nitrique de densité 1,2, jusqu'à ce qu'il s'établisse une vive réaction avec dégagement de vapeurs rutilantes. On

[1]) D'après : Zeitschrift für analyt. Chemie 50 (1911), page 770, ce réactif est préparé comme suit : Une solution de 12 gr. de glycocolle dans de l'eau chaude est additionnée de 6 gr. d'oxyde de cuivre pur. On chauffe au B.-M. jusqu'à solution complète. La liqueur obtenue, maintenue à une température d'environ 60°, est additionnée de 60 gr. de carbonate de potassium pulvérisé et on étend avec de l'eau distillée exactement à 1000 cc. Par filtration on obtient un liquide bleu foncé de très bonne conservation, qui, à une température inférieure à 40°, n'est réduit que par le fructose.

[2]) Loc. cit.,page 55.

Nota : Si la durée du chauffage dépasse 30 secondes et si l'acide chlorhydrique est plus fort que 12°,5, la coloration se produit aussi avec le glucose (L. ROSENTHALER).

[3]) L. ROSENTHALER : Zeitschrift f. analyt. Chemie 44 (1905), p. 292.

[4]) Loc. cit. (page 56).

[5]) Réaction de Berg, loc. cit. page 56.

éloigne le feu un moment, et, lorsque la réaction est calmée, on évapore à consistance de sirop pour chasser l'excès d'acide.

On reprend alors par 5 à 6 centimètres cubes d'eau, on sature par du carbonate de potassium sec et pulvérisé à chaud, puis on verse dans un verre à pied, et on ajoute 2 centimètres cubes d'acide acétique cristallisable. Par agitation et refroidissement, il se forme un dépôt cristallin, qui, examiné au microscope, apparait sous forme d'aiguilles transparentes groupées en rosaces (formation de saccharate acide de potassium peu soluble, qui caractérise l'acide saccharique).

III. — Pour rechercher les autres corps accompagnant l'extrait alcoolique, les derniers 300 grammes (page 47) du liquide concentré primitif, sont évaporés à sec au B.-M. sous pression réduite. Le résidu est repris par de l'eau distillée chaude, et on filtre après avoir traité la solution avec une certaine quantité de silicates et de kaolin (confr. page 15) . Il se présente sur le filtre une assez grande quantité du résidu non soluble dans l'eau (voir à ce sujet la note page 68). Le filtrat limpide est traité d'après la méthode de ROCHLEDER [1]). Dans ce but le liquide est porté à l'ébullition, puis additionné d'une solution d'acétate neutre de plomb, en faible excès. On filtre, et le précipité obtenu est lavé plusieurs fois avec de l'eau distillée. Le filtrat ,un peu concentré au B. M., est alors additionné de la quantité nécessaire d'une solution de sous-acétate de plomb. On obtient de nouveau un précipité qui après filtration est soigneusement lavé, d'abord avec une petite quantité de la solution de sous-acétate de plomb, puis avec de l'eau distillée.

Il y a dès lors à examiner :

1° Le précipité obtenu par l'acétate de plomb.

2° Le précipité obtenu par le sous-acétate de plomb. Tous deux insolubles dans l'alcool à 95°, mais facilement solubles dans l'acide acétique.

3° Le filtrat sucré obtenu par filtration.

[1]) L. ROSENTHALER : Grundzüge d. chem. Pflanzenuntersuch. (1904), page 21.

Ces matières à examiner peuvent renfermer outre certains acides organiques que nous avons déterminés précédemment, des matières colorantes, des tannins, des gommes, etc.

Pour libérer ces corps, chacun des deux précipités, mis en suspension dans de l'alcool, est traité par l'hydrogène sulfuré. On filtre et on obtient ainsi :

a) un liquide rouge foncé correspondant au précipité obtenu avec l'acétate de plomb.

b) un liquide brun, qui correspond à la précipitation par le sous-acétate de plomb.

La première solution fortement concentrée au B.-M., est abandonnée pendant quelque temps dans un exsiccateur à vide. On obtient un sirop épais, homogène, d'une coloration rouge-vin ; l'odeur est agréable, aromatique, le goût acide, un peu amer et astringent.

Le produit est insoluble dans l'éther et le chloroforme, peu soluble dans l'eau, facilement soluble au contraire dans l'alcool à 95°.

Une solution aqueuse additionnée de quelques gouttes d'une solution de perchlorure de fer, donne une très vive coloration verte. En traitant la même solution, soit avec de l'eau de baryte, soit avec une solution aqueuse d'albumine, on obtient un précipité jaune-brun.

D'après Nierenstein [1]), ces réactions indiquent la présence d'un *tannin* que l'on peut classer parmi les *tannins pyrocatéchiques*.

Une solution aqueuse du sirop n'est pas directement réduite par le réactif cupro-alcalin; mais nous avons remarqué que si on traite la solution à essayer à l'ébullition par l'acide chlorhydrique, il se forme, en toute petite quantité, un précipité brun, et le liquide réduit alors, quoique faiblement, la solution cupro-alcaline. Par conséquent, la présence de petites quantités d'un glucoside, par exemple d'un glucoside tannique, n'est pas impossible.

Nous avons indiqué plus haut la vive coloration rouge accompagnant l'extrait alcoolique.

Nous retrouvons ici cette même matière colorante, mais plus concentrée. Elle se dissout facilement dans les alcools

[1]) « E. Abderhalden », vol. II, page 999.

éthylique, méthylique et amylique. Elle est assez résistante vis-à-vis des agents chimiques ; ainsi, en la traitant avec le chlorure d'étain et l'acide chlorhydrique, elle n'est pas réduite.

Par addition d'une solution de 20% de soude caustique, on obtient une coloration plus vive. En suivant les indications de Rota [1]) sur l'identification des corps colorants, nous arrivons à classer notre produit parmi les *anthraquinones*.

* * *

La deuxième solution, correspondant à la précipitation au moyen de sous-acétate de plomb, laisse après évaporation à sec (dans un exsiccateur à vide) un résidu brun, homogène, entremêlé de petits cristaux jaunâtres, très acides. L'analyse ne révèle que certains des corps qui ont déjà été obtenus.

[1]) Memento du Chimist (1919), page 659.

Appareil a épuisement continu pour l'extraction des alcaloides insolubles dans l'eau et des acides organiques.

Nous avons remarqué que le traitement avec du kaolin et les silicates, dans tous les cas où nous les avons employés, ont provoqué un faible dégagement gazeux, et la formation de mousse. En examinant les réactifs employés, nous y trouvons des quantités notables de carbonate de chaux.

C'est pour cela que nous avons jugé bon de soumettre à l'analyse le dépôt restant sur le filtre (voir page 66) ; on peut supposer en effet que le carbonate de chaux est entré en réaction avec les acides oxalique et tartrique en formant des sels de chaux insolubles dans l'eau et l'acide acétique.

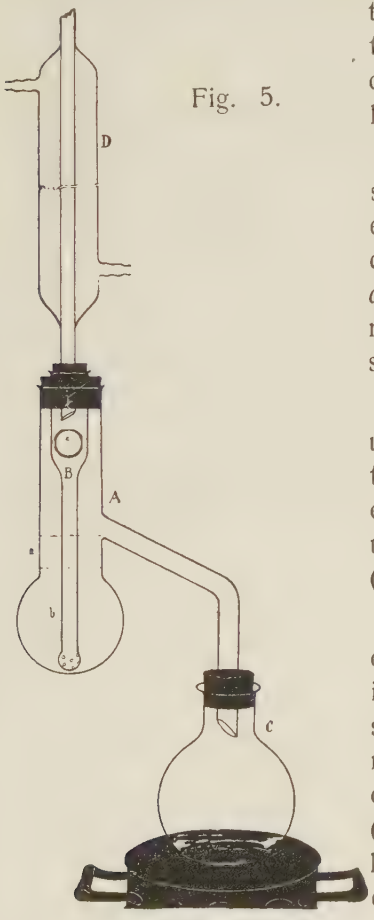


Fig. 5.

Pour ne pas omettre la présence éventuelle de ces acides, et en même temps pour rechercher *les alcaloïdes non solubles dans l'eau*, nous avons traité la matière à examiner de la façon suivante :

Le résidu, vraisemblablement un mélange de résines, est additionné d'acide sulfurique dilué en quantité suffisante pour obtenir une réaction faiblement acide (papier au rouge Congo).

Le liquide non filtré est placé dans un appareil à épuisement imaginé et construit par nous, pour suppléer aux appareils du commerce difficiles à se procurer et d'ailleurs très chers. Il se compose (fig. 5) d'une sorte de ballon à large col et à fond tond *(A)*, en communication (par le tube *A-C)*

avec un récipient de condensation, le ballon *C*. A l'intérieur du ballon *A*, on place un tube de verre *(B)* dont l'extrémité inférieure légèrement renflée est perforée, et dont l'extrémité supérieure élargie et percée d'un gros trou *(C)* est adaptée à un réfrigérant à reflux *(D)*.

Le dissolvant, retombant du réfrigérant, passe par le tube *(B)* et se collecte (en *a*) à la surface du liquide à épuiser *(b)* qu'il traverse lentement. L'excès du dissolvant coule continuellement dans le récipient à travers le tube *A-C*.

Nous avons de préférence choisi l'éther éthylique comme solvant, pour profiter d'une méthode que Schoorl indique (Zeitschr. f. angew. Chemie, 1900, 13, page 367), pour la séparation de certains acides organiques. Le technique est basée sur la solubilité différente des acides dans l'éther, l'acide oxalique et l'acide tartrique en particulier.

Nous avons fait un premier épuisement d'une durée de 6 heures. La solution éthérée, évaporée à siccité, laisse un résidu jaune, d'une consistance de beurre, d'une odeur aromatique très forte. Il s'agit vraisemblablement de petites quantités de corps gras et d'une essence. Le réactif de Millon donne un précipité jaunâtre, et le réactif d'Erdmann une coloration brun-rouge ; mais, nous n'avons pas dans cette matière pu constater la présence des alcaloïdes, tandis qu'une trace d'acide oxalique est caractérisée au moyen de la formation d'oxalate de chaux.

En examinant les résidus obtenus par des extractions ultérieures, soit en milieu acide, soit en milieu alcalin, les réactions des corps recherchés furent négatives.

§ 4.

Traitements
a l'eau distillée et a l'eau distillée acidulée.

1° *Extraction à l'eau.* —

Environ 500 grammes des fruits, précédemment épuisés par l'éther de pétrole, l'éther éthylique, le chloroforme et l'alcool à 95°, puis bien séchés pour éliminer le dernier dissolvant, sont mis à macérer dans l'eau distillée à la température du laboratoire.

Dans ce but on traite la plante avec assez d'eau, pour obtenir une masse molle. On abandonne le mélange dans un endroit tempéré, pendant 6 jours.

Au bout de ce temps, la masse est mise sur une toile, puis pressée dans une presse à main. Les fruits assez secs, sont traités encore une fois avec une nouvelle quantité d'eau dans les mêmes conditions. Le liquide ainsi obtenu est fortement trouble et coloré en jaune-brun. Il laisse déposer après quelque temps un précipité brun, qui est isolé et lavé plusieurs fois avec de l'eau et de l'alcool. On obtient un produit jaune-brunâtre, qui donne nettement la réaction de l'amidon par l'iode.

L'amidon du *Haronga* se présente sous la forme de grains lenticullaires d'un diamètre de 0 mm 015.

Le liquide, malgré nos essais pour obtenir une solution limpide, présente toujours un trouble colloïdal. Ce n'est que par la méthode de Pukal [1]) que nous avons pu obtenir un filtrat limpide.

La solution est fortement concentrée au B.-M. Pendant l'évaporation il s'est précipité un produit, blanc volumineux, qui, séparé par filtration et analysé, nous a donné les résultats suivants :

Les réactions des albuminoïdes furent négatives. Chauffé sur une lame de platine, le corps noircit en laissant un résidu charbonneux assez grand.

Il est soluble dans l'acide nitrique, moins soluble dans l'acide acétique.

[1]) Filtration à la trompe à travers les bougies en terre poreuse, de Pukal.

Une solution dans l'acide nitrique, donne par addition du molybdate d'ammoniaque un précipité jaune, ce qui indique la présence d'acide phosphorique.

Les réactions de la chaux sont positives, et nous avons pu constater une trace de manganèse et de magnésium.

Le charbon, qui se forme en chauffant, indique la présence de corps organiques ; et nous avons reconnu en effet l'existence d'acide citrique (réactif de DENIGÈS).

Par conséquent, il s'agit essentiellement d'un mélange de phosphate et de citrate de chaux.

Le liquide concentré, ayant une coloration brune, est très acide. Il réduit faiblement la solution cupro-alcaline et donne, soit avec le réactif de MILLON, soit avec une solution d'acide tannique, un précipité brun-vert. Avec les autres réactifs des alcaloïdes et ceux des glucosides, les résultats furent négatifs. Par addition de perchlorure de fer, on obtient une coloration vert-brun, et l'acétate de plomb détermine un précipité blanc, volumineux, essentiellement composé de phosphate de plomb. Le liquide épuisé par l'éther ne donne pas de renseignements importants.

Gommes. — Enfin la solution à examiner est additionnée de son volume d'alcool à 95°. Il se précipite immédiatement une matière visqueuse d'une coloration gris-clair. Après avoir abandonné le mélange au repos pendant quelque temps, le précipité est séparé par décantation, puis lavé avec de l'alcool à 95°.

Séché à l'étuve à 50°—60°, il forme une masse blanche, facile à pulvériser. Ce produit est soluble dans l'eau, en donnant une solution trouble, neutre, qui par addition d'une goutte d'acide chlorhydrique devient parfaitement limpide.

La solution aqueuse, soumise à l'action de divers agents chimiques, a donné les résultats suivants :

Le réactif cupro-alcalin n'est pas réduit.

L'acétate neutre de plomb provoque un précipité blanc, et le réactif de NESSLER un précipité jaune.

Les réactions des albuminoïdes sont négatives, et une précipitation du corps, au moyen de la lessive de soude et d'une solution concentrée de sulfate d'ammoniaque, n'a pas abouti.

Le produit ne contient pas d'azote (réaction de LASSAIGNE). Calciné sur une lame de platine, il laisse une assez grande quantité de cendres.

Nous avons ensuite examiné les produits d'hydrolyse de ce corps visqueux.

Par oxydation avec l'acide nitrique (page 63) on obtient un produit blanc cristallin ayant l'aspect et le point de fusion de l'acide mucique.

Par distillation avec l'acide chlorhydrique, on obtient un distillat qui donne nettement les réactions furfuroliques (confr. page 57).

2° *Extraction à l'eau acidulée.* —

Les fruits traités par l'eau distillée froide, sont finalement soumis à l'épuisement à l'eau acidulée (40 grammes d'acide chlorhydrique de densité 1,12 pour 1000 grammes d'eau distillée) dans les mêmes conditions que pour l'épuisement à l'eau distillée simple.

Par filtration à travers une bougie poreuse de PUKAL on obtient un liquide clair jaune.

Concentré au B.-M., le liquide à essayer donne les résultats suivants :

Avec de la lessive de soude on obtient un précipité blanc-jaune. Le perchlorure de fer ne donne pas de changement de couleur et la solution cupro-alcaline est faiblement réduite.

Comme acides organiques nous trouvons, mais en petite quantité, de l'acide tartrique et de l'acide oxalique.

Parmi les acides inorganiques, nous avons pu constater en quantité notable l'acide phosphorique.

En outre, la solution à examiner donne les réactions du fer et de la chaux.

Enfin, nous nous sommes appliqué à rechercher les alcaloïdes dans le liquide concentré.

Ce liquide donne :

Avec le réactif à l'acide tannique, un précipité brun.
» » » de WAGNER, un précipité brun.
» » » de MARMÉ, une solution trouble.
» » » de MILLON, un précipité jaune.
» » » d'ERDMANN, une coloration rose.

Etant donné ces résultats positifs, nous avons traité le liquide en essai selon la méthode de Stas-Otto.

Cependant, la solution aqueuse du résidu, obtenue après l'extraction à l'éther, ne donne pas les réactions des alcaloïdes, tandis qu'on a pu constater, à l'aide des réactifs indiqués précédemment, des traces d'acide oxalique et d'acide tartrique.

---

§ 5.

Analyse qualitative des cendres des fruits du haronga.

Une petite quantité, 5 grammes environ, des fruits pulvérisés, est calcinée dans un creuset en porcelaine en présence de nitrate d'ammonium.

On porte progressivement au rouge sombre, que l'on maintient quelque temps, et on laisse refroidir.

Dans les cendres obtenues, et qui sont d'un aspect gris-brun, nous avons pu constater la présence des corps suivants :

1° Fer	6° Sodium
2° Manganèse	7° Silicates
3° Magnésium	8° Phosphore
4° Calcium	9° Soufre
5° Potassium	10° Chlore

---

§ 6.

Quelques analyses quantitatives.

Nous avons jugé bon de déterminer exactement la quantité des corps les plus importants qui entrent dans la composition des fruits du *Haronga*, et nous avons ainsi dosé les matières grasses, les hydrates de carbone, les corps réducteurs, l'azote total, le phosphore et les cendres.

1° Dosage de la matière grasse (appareil de SOXHLET, dissolvant: éther de pétrole léger):

Pour 5 grammes de substance, nous avons trouvé : 0,465 grammes du corps gras, ce qui correspond à 9 gr. 3 %.

2° Dosage total des matières hydrocarbonées (sucre, amidon, gomme, etc.):

On chauffe pendant 5 heures au B.-M. bouillant, dans un matras de 200 cc. environ 2 grammes (1 gr. 925) du produit, additionnés de 50 cc. d'eau distillée, et de 15 gouttes d'acide sulfurique pur.

On filtre et le liquide est neutralisé avec de la lessive de soude, puis amené exactement à 250 cc. Le sucre réducteur produit par cette hydrolyse est déterminé selon la méthode de G. Bertrand [1]) et calculé comme sucre interverti.

Nous sommes arrivé aux chiffres suivants :

Dans 20 cc. du liquide : 0,09242 grammes
» 250 cc. » » : »

Donc 1,9250 gr. des fruits donne 1,155 gr. de sucre réducteur
100 gr.....X

$$X = 60{,}00\%$$

Ce chiffre correspond à environ 54% de matières hydrocarbonnées.

3° *Dosage des matières réductrices.* —

On traite plusieurs fois avec 20 à 30 cc. d'eau distillée à la température de 40°-50° au B.-M., environ 1 gramme (1 gr. 3548) du produit pulvérisé. On filtre chaque fois le liquide dans un ballon jaugé de 100 cc.; on lave ensuite les fruits et le filtre avec assez d'eau distillée (50°—60°) pour obtenir exactement 100 cc.

[1]) « G. Bertrand et P. Thomas », page 85.

La quantité de matières réductrices (calculée comme sucre interverti) est de : 23,9%.

4° *Dosage de l'azote total.* —

Le dosage de l'azote est fait selon la méthode de KJELDAHL, et avec l'appareil d'AUBIN. La destruction des matières organiques fut opérée par l'acide sulfurique en présence d'oxalate neutre de potasse comme l'indique Denigès.

Nous trouvons : 0,753% (ce qui correspondrait approximativement à $0,753 \times 6,25 = 4,70\%$ de matières albuminoïdes).

5° *Dosage des phosphates.* —

Le dosage qui est exécuté gravimétriquement en transformant le phosphore successivement en phosphomolybdate d'ammonium et en phosphate ammoniaco-magnesien, puis par calcination en pyrophosphate de magnésium, a fourni comme résultat :

1,37% de $Mg^2 P^2 O^7$

correspondant à 0,38% de P. et à 0,87% de P^2O^5.

6° *Dosage des cendres.* —

Si on chauffe doucement sur un bec Bunsen, dans une capsule de platine tarée, 0,9857 gr. de la substance bien séchée, on obtient 0,0348 gr. de cendres, correspondant à 12,17%.

TROISIÈME PARTIE.

RÉSUMÉ ET CONCLUSIONS.

Dans ce travail nous avons été conduit à examiner une série de méthodes indiquées dans la littérature pour l'identification et l'isolement des différents corps organiques.

Nous avons essayé d'une part de corriger la technique de quelques-unes d'entre elles, d'autre part de choisir les meilleures.

Ensuite, nous avons réuni ces méthodes en créant un mode opératoire systématique, au point de vue d'une analyse phytochimique complète. Nos techniques employées pour l'étude du fruit du *Haronga* nous ont amené à la détermination d'un grand nombre de corps dont les principaux sont :

Une matière grasse, un alcool phytostérique, un hydrocarbure, des matières colorantes, des résines, différents sucres réducteurs, des corps tanniques, une matière visqueuse, un certain nombre d'acides organiques et inorganiques, des corps minéraux, etc.

Les résultats obtenus furent, dans la plupart des cas, des plus satisfaisants, ce qui nous autorise à conclure que l'emploi de notre méthode peut être considéré comme tout à fait général et évitant tout mécompte.

* * *

Cette étude nous permet d'appeler l'attention sur les quantités notables de corps gras et de sucre que les fruits du *Haronga* contiennent.

En ce qui concerne le sucre fermentescible, si on envisage la formule $C^6H^{12}O^6 = 2CO^2 + 2C^2H^5OH$, il peut facilement se transformer en alcool éthylique.

Si donc, on évalue à 12 ou 15% [1]) la proportion de ce sucre

[1]) C'est du moins le résultat obtenu après 3—4 heures de fermentation simple en employant le saccharomètre de la fermentation de Lohnstein.

dans les fruits, dix kilogrammes de ceux-ci donneraient environ 750 grammes d'alcool.

Quant à la fermentation du sucre de *Haronga*, nous avons pu observer à l'aide de l'appareil de FIEBIG et EINHORN, et en l'absence de levure de biere, qu'à une température de 30° (qui parait être la température optima) elle se produit assez vite.

Si par contre, on ajoute au liquide à traiter un peu de levure de bière, la fermentation est extrêmement rapide (environ 250 fois plus rapide qu'en l'absence de levure).

Tableau résumant les caractères et les proportions des corps les plus importants du fruit de *Haronga.*

Matière grasse 9,30%	Indice d'acide	9,92
	» de saponification.....	210,69
	» d'iode	145,39
	» de Reichert, Meissl ...	4
	» de Polenske	0,3
	Poids spécifique	0,9389
	Indice de réfractomètre à 25°	79,8
Matière hydrocarbonée 54,00%	Amidon, gomme, etc.	
	Sucres réducteurs (24,00%)	Arabinose
		Mannose
		Galactose
		Fructose
		Glucose

Azote total : 0,753%.
Cendres : 12,17%.
Phosphates (en P^2O^5) : 0,87%.

Vu et bon à imprimer,
Strasbourg le 31 Mai 1922,

Le Président :
F. JADIN.

Vu et approuvé,
Strasbourg le 1er Juin 1922.

Le DOYEN :
F. JADIN.

Vu et permis d'imprimer,
Strasbourg le 2 Juin 1922,

Le RECTEUR :
S. CHARLÉTY.

TABLE DES MATIÈRES.

Avant-Propos 1
Introduction 3
Première Partie
Caractères botaniques du Haronga..... 9
Deuxième Partie
Etude chimique..... 11
A. Recherches Préliminaires
§ 1. Analyses préliminaires pour la détermination des corps organiques très communs dans le règne végétal 12
§ 2. Recherche des glucosides et des alcaloïdes 14
1° Recherche des glucosides d'après la méthode de BOURQUELOT 14
2° Recherche des alcaloïdes et glucodises d'après la méthode de STAS-OTTO 15
B. Recherches Définitives.
Méthode Systématique d'extraction 17
§ 1. Epuisement par l'éther de pétrole 19
§ 2. Epuisement par l'éther éthylique et le chloroforme 45
§ 3. Epuisement par l'alcool à 95° 46
§ 4. Traitements à l'eau distillée et à l'eau distillée acidulée 71
1° Extraction à l'eau 71
2° Extraction à l'eau acidulée 73
§ 5. Analyse qualitative des cendres 74
§ 6. Quelques analyses quantitatives..... 75
Troisième Partie.
Résumé et conclusions 77